

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 998 689**

51 Int. Cl.:

C07K 17/02	(2006.01) A61K 9/00	(2006.01)
A61K 49/00	(2006.01) C07K 7/06	(2006.01)
A61K 47/64	(2007.01) G01N 33/50	(2006.01)
A61K 38/30	(2006.01)	
A61K 38/18	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	
G01N 33/68	(2006.01)	
C07K 7/08	(2006.01)	
G01N 33/53	(2006.01)	
A61K 38/10	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.08.2018 PCT/US2018/045054**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.02.2019 WO19028281**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.08.2018 E 18840995 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2024 EP 3661539**

54 Título: **Péptidos optimizados para el direccionamiento a nervios humanos y su uso en cirugía guiada por imágenes, diagnóstico y administración terapéutica**

30 Prioridad:

02.08.2017 US 201762540510 P
18.04.2018 US 201862659612 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.02.2025

73 Titular/es:

THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (100.00%)
1111 Franklin Street, 12th Floor
Oakland, CA 94607, US

72 Inventor/es:

NGUYEN, QUYEN, T.;
WHITNEY, MICHAEL A.;
HINGORANI, DINA;
TSIEN, ROGER, Y. y
ADAMS, STEPHEN

74 Agente/Representante:

QUIRÓS MARÍN, María

ES 2 998 689 T3

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

DESCRIPCIÓN

Péptidos optimizados para el direccionamiento a nervios humanos y su uso en cirugía guiada por imágenes, diagnóstico y administración terapéutica

Declaración sobre los derechos de invenciones realizadas bajo investigación o desarrollo patrocinados por el gobierno federal

Esta invención se realizó con apoyo gubernamental bajo EB008122 y EB014929 otorgados por los Institutos Nacionales de Salud. El Gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

Antecedentes de la invención

La conservación de neuronas humanas y nervios humanos es uno de los objetivos más importantes de cualquier procedimiento quirúrgico, porque la transección accidental de neuronas o nervios conduce a una morbilidad significativa. Los nervios se identifican normalmente por su apariencia blanquecina alargada y relación con estructuras cercanas o por estudios electrofisiológicos. Sin embargo, en casos tales como traumatismo, implicación tumoral, inflamación o infección, la identificación de nervios usando estos criterios puede ser difícil. Por tanto, existe la necesidad de métodos para identificar de manera fiable y concluyente neuronas o nervios que superen las deficiencias en la técnica.

La identificación de neuronas o nervios antes de la exposición directa durante la cirugía o la confirmación de la identidad de neuronas o nervios en casos de incertidumbre después de la exposición directa se logra mediante monitorización electromiográfica (EMG). Sin embargo, esta técnica tiene la desventaja de no proporcionar retroalimentación visual al cirujano que opera. Por tanto, incluso si se ha identificado un nervio en una ubicación, a través de estimulación o bien accidental o bien intencionada, no hay una guía visual para el cirujano que opera en cuanto a qué distancia se encuentra el nervio del sitio de estimulación o la dirección de desplazamiento del nervio alejándose del sitio de estimulación. Además, la EMG sólo traza rutas motoras, no fibras sensoriales. La EMG falla si la conducción neuronal o nerviosa o la transmisión neuromuscular se bloquean temporalmente en cualquier lugar distal al sitio de registro. Tal bloqueo se produce fácilmente debido a la compresión neuronal o nerviosa, traumatismo, anestésicos locales, o bloqueadores neuromusculares.

El marcaje neuronal o nervioso depende principalmente del trazado retrógrado o anterógrado de los tractos axonales identificados individualmente mediante el uso de colorantes fluorescentes. Sin embargo, los métodos de marcaje de neuronas o nervios mediante trazadores fluorescentes aplicados localmente tienen varias desventajas. En primer lugar, esta técnica puede marcar sólo una neurona o tracto de fibras nerviosas a la vez, dependiendo de dónde se haya inyectado el colorante. En segundo lugar, esta técnica da como resultado solamente un marcaje limitado de colorantes fluorescentes a lo largo de los tractos axonales, debido a que los trazadores axonales retrógrados se acumulan normalmente en el cuerpo de la célula neural. En tercer lugar, el transporte retrógrado es relativamente lento (del orden de milímetros por día) y, por tanto, lleva mucho tiempo marcar neuronas o nervios humanos, que a menudo son más largos que un metro, tal como en el caso de la neurona o nervio ciático y sus arborizaciones. En cuarto lugar, la aplicación de colorantes fluorescentes a dianas de inervación, tales como inyecciones intramusculares directas para marcar neuronas o nervios motores, normalmente es complicada con una cantidad variable del colorante trazador que permanece en el sitio de inyección. Como la disección de neuronas o nervios depende de la visualización precisa de estructuras adyacentes antes de encontrarlas, no sería deseable un sitio quirúrgico que esté contaminado con colorantes fluorescentes. Finalmente, la inyección directa del colorante fluorescente en sí puede dañar los órganos o neuronas o nervios diana de interés, o bien por daño mecánico o bien por la concentración local muy alta de colorante y vehículo en el sitio de inyección.

Ha habido una necesidad en la técnica de identificar péptidos capaces de unirse a nervios y neuronas humanos, con el fin de facilitar procedimientos quirúrgicos y protección de nervios humanos.

Las secuencias peptídicas dirigidas a nervios se identificaron previamente por su capacidad para unirse a nervios de ratón para investigación de laboratorio. Sin embargo, las secuencias peptídicas descritas en la presente solicitud se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos, después de la inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos y como tales estos péptidos cumplen la necesidad de poder unirse más específica y eficazmente a nervios humanos en comparación con secuencias previas. La presente invención proporciona secuencias peptídicas que se unen selectivamente a neuronas y/o nervios humanos, así como métodos de uso de esas secuencias en procedimientos quirúrgicos, por ejemplo, para conservar nervios y/o para evitar daños nerviosos durante tales procedimientos, tal como se define en las reivindicaciones. Hussain, T., *et al.*, PLoS ONE 10(3): e0119600 (2015) divulga que un péptido marcado con fluorescencia aumenta la identificación de ramas nerviosas faciales degeneradas durante la cirugía y mejora el desenlace funcional. El documento WO 2010/121023 divulga péptidos y aptámeros para el direccionamiento a neuronas o nervios.

Breve resumen de la invención

La presente invención se define por las reivindicaciones.

Se divulgan en el presente documento, en determinadas realizaciones, moléculas de direccionamiento que comprenden un péptido que se une específicamente a una neurona humana, a un nervio humano, o a un componente de cualquiera de ellos. En algunas realizaciones, el péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWEA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWEATAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124),

5FAM-QVPWEEPPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que se une específicamente a una neurona o nervio humanos, o a un componente de cualquiera de ellos, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWEA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWEATAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWEA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que

consiste en SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID

NO: 26).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPPYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la carga es un fármaco, un resto fluorescente, un agente fotosensibilizante, o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un fármaco.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un fármaco seleccionado del grupo que consiste en: un antihistamínico, un modulador del receptor GABA, un inhibidor de la recaptación de neurotransmisores, un anestésico local, un anticolinérgico, un bloqueador de los canales de sodio, un bloqueador de los canales de calcio, una hormona liberadora de tirotropina, un inhibidor de γ -secretasa, un agonista o antagonista del receptor AMPA, un agonista o antagonista del receptor NMDA, un agonista o antagonista del receptor mGlu, un factor de crecimiento, un agente antiemético, un corticosteroide; un agente citotóxico; un antioxidante, un quelante de hierro, un modulador mitocondrial, un modulador de sirtuína, un modulador de óxido nítrico (NO) y/u óxido nítrico sintasa (NOS), un agonista o antagonista de los canales de potasio, un agonista o antagonista de los receptores purinérgicos, y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un fármaco seleccionado del grupo que consiste en: benzocaína; carticaína; cincocaína; ciclotetacaína; lidocaína; prilocaína; propoxicaína; proparacaína; tetracaína; tocainida; y trimecaína; metotrexato; ciclofosfamida; talidomida; paclitaxel; pemetrexed; pentostatina; pipobromán; pixantrona; plicamicina; platonina; procarbazona; raltitrexed; rebecamicina; rubitecán; SN-38; salinosporamida A; satraplatino; estreptozotocina; swainsonina; tariquidar; taxano; tegafur-uracilo; temozolomida; testolactona; tioTEPA; tioguanina; topotecán; trabectedina; tretinoína; tetranitrato de triplatino; tris(2-cloroetil)amina; troxacitabina; mostaza de uracilo; valrubicina; vinblastina; vincristina; vinorelbina; vorinostat; zosuquidar; carbamazepina; oxcarbazepina; feniteína; ácido valproico; valproato de sodio; cinarizina; flunarizina; nimodipina; factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF); neurotrofina-3; neurotrofina-4; receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); factor de crecimiento similar a insulina (IGF); y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un resto fluorescente.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un resto fluorescente seleccionado del grupo que consiste en: una proteína fluorescente, un péptido fluorescente, un

colorante fluorescente, y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un resto fluorescente seleccionado del grupo que consiste en: un xanteno; un bimano; una cumarina; una amina aromática; un benzofurano; una cianina fluorescente; un carbazol; un dicianometilpirano; polimetina; oxabenzantrano; pirilio; carbostilo; perileno; acridona; quinacridona; rubreno; antraceno; coroneno; fenantreno; pireno; butadieno; estilbeno; porfirina; ftalocianina; complejos de lantánido-quelato metálico; complejos de quelatos de metales de tierras raras; derivados de los mismos, y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un resto fluorescente seleccionado del grupo que consiste en: 5-carboxifluoresceína; fluoresceína-5-isotiocianato; 6-carboxifluoresceína; 5(6)-carboxifluoresceína; tetrametilrodamina-6-isotiocianato; 5-carboxitetrametilrodamina; derivados de rodol de 5-carboxilo; tetrametil y tetraetilrodamina; difenildimetil y difenildietilrodamina; dinaftilrodamina; cloruro de sulfonilo 101 de rodamina; Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7, verde de indocianina, IR800CW, proteína fluorescente cian (CFP), EGFP, 6-FAM, FAM, fluoresceína, 5,6-dicarboxifluoresceína, 5-(y 6)-sulfofluoresceína, sulfonafluoresceína, fluoresceína de succinilo, 5-(y 6)-carboxilo SNARF-1, sulfonato de carboxifluoresceína, zwitterión de carboxifluoresceína, amonio cuaternario de carboxifluoresceína, fosfonato de carboxifluoresceína, carboxifluoresceína GABA, carboxifluoresceína-cys-CyS, 5'(6')-carboxifluoresceína, glutatión fluoresceína, y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un agente fotosensibilizante.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un agente fotosensibilizante seleccionado del grupo que consiste en: una porfirina, clorina, y colorante.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un agente fotosensibilizante seleccionado del grupo que consiste en: porfirina, protoporfina IX, puritina, verteporfina, HPPH, temoporfina, azul de metileno, fotofrina, protofrina, hematoporfirina, talaporfina, monoácido derivado de benzoporfirina, ácido 5-aminoleuvalínico, texapirina de luteo, metaloftalocianina, metalo-naftocianinasulfobenzoporfirazina, metalo-naftalocianinas, tetrasulfoftalocianina de zinc, bacterioclorinas, metaloclorinas, derivado de cloro, tetra(*m*-hidroxifenil)clorina (*m*THPC), feoforbida, dibromofluoresceína (DBF), IR700DX, naftalocianina, derivado de porfirina.

Se proporciona una molécula de direccionamiento para su uso en un método para identificar una neurona o nervio humanos que comprende poner en contacto la neurona o nervio humanos con dicha molécula de direccionamiento que comprende (a) un péptido que se une específicamente a la neurona o nervio humanos, o a un componente de cualquiera de ellos, y (b) un resto fluorescente, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC

(HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

- 5 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2).
- 10 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).
- 15 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5).
- 20 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7).
- 25 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8).
- 30 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10).
- 35 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12).
- 40 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13).
- 45 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16).
- 50 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21).
- 55 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23).
- 60 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24).
- 65 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26).
- 5 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28).
- 10 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118).
- 15 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120).
- 20 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122).
- 25 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123).
- 30 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124).
- En algunas realizaciones, el resto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en: una proteína fluorescente, un péptido fluorescente, un colorante fluorescente, y/o combinaciones de los mismos.
- 35 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).
- En algunas realizaciones, el resto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en: un xanteno; un bimano; una cumarina; un aromatic amina; un benzofurano; una cianina fluorescente; un carbazol; un dicianometilenpirano; polimetina; oxabenzantrano; pirilio; carbostilo; perileno; acridona; quinacridona; rubreno; antraceno; coroneno; fenantreceno; pireno; butadieno; estilbeno; porfirina; ftalocianina; complejos de lantánido-quelato metálico; complejos de quelatos de metales de tierras raras; derivados de los mismos, y/o combinaciones de los mismos.
- 40 En algunas realizaciones, el resto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en: 5-carboxifluoresceína (5-FAM); fluoresceína-5-isotiocianato; 6-carboxifluoresceína (6-FAM); 5(6)-carboxifluoresceína; tetrametilrodamina-6-isotiocianato; 5-carboxitetrametilrodamina; derivados de rodol de 5-carboxilo; tetrametil y tetraetilrodamina; difenildimetil y difenildietilrodamina; dinaftilrodamina; cloruro de sulfonilo 101 de rodamina; Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7, verde de indocianina, IR800CW, proteína fluorescente cian (CFP), EGFP, 6-FAM, FAM, fluoresceína, 5,6-dicarboxifluoresceína, 5-(y 6)-sulfofluoresceína, sulfonafluoresceína, fluoresceína de succinilo, 5-(y 6)-carboxilo
- 45 SNARF-1, sulfonato de carboxifluoresceína, zwitterión de carboxifluoresceína, amonio cuaternario de carboxifluoresceína, fosfonato de carboxifluoresceína, carboxifluoresceína GABA, carboxifluoresceína-cys-CyS, 5'(6')-carboxifluoresceína, glutatión fluoresceína, y/o combinaciones de los mismos.
- 50 Se proporciona una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso en un método para administrar un fármaco a una neurona o nervio humanos que comprende poner en contacto la neurona o nervio humanos con dicha molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprende (a) un péptido que se une específicamente a la neurona o nervio, o a un componente de cualquiera de ellos, y (b) un fármaco, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en:
- 55 SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ
- 60
- 65

ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124),

5FAM-QVPWEEPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el fármaco se selecciona del grupo que consiste en: un antihistamínico, un modulador del receptor GABA, un inhibidor de la recaptación de neurotransmisores, un anestésico local, un anticolinérgico, un bloqueador de los canales de sodio, un bloqueador de los canales de calcio, una hormona liberadora de tirotropina, un inhibidor de γ -secretasa, un agonista o antagonista del receptor AMPA, un agonista o antagonista del receptor NMDA, un agonista o antagonista del receptor mGlu, un factor de crecimiento, un agente antiemético, un corticosteroide; un agente citotóxico; un antioxidante, un quelante de hierro, un modulador mitocondrial, un modulador de sirtuina, un modulador de óxido nítrico (NO) y/u óxido nítrico sintasa (NOS), un agonista o antagonista de los canales de potasio, un agonista o antagonista de los receptores purinérgicos, y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el fármaco se selecciona del grupo que consiste en: benzocaína; carticaína; cincocaína; ciclometacaína; lidocaína; prilocaína; propixacaína; proparacaína; tetracaína; tocainida; y trimecaína; metotrexato; ciclofosfamida; talidomida; paclitaxel; pemetrexed; pentostatina; pipobromán; pixantrona; plicamicina; procarbazona; raltitrexed; rebecamicina; rubitecán; SN-38; salinosporamida A; satraplatino; estreptozotocina; swainsonina; tariquidar; taxano; tegafur-uracilo; temozolomida; testolactona; tioTEPA; tioguanina; topotecán; trabectedina; tretinoína; tetranitrato de triplatino; tris(2-cloroetil)amina; troxacitabina; mostaza de uracilo; valrubicina; vinblastina; vincristina; vinorelbina; vorinostat; zosuquidar; carbamazepina; oxcarbazepina; feniteína; ácido valproico; valproato de sodio; cinarizina; flunarizina; nimodipina; factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF); neurotrofina-3; neurotrofina-4; receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); factor de crecimiento similar a insulina (IGF); y/o combinaciones de los mismos.

Se proporciona una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso en un método para administrar un agente fotosensibilizante a una neurona o nervio humanos que comprende poner en contacto la neurona o nervio humanos con dicha molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprende (a) un péptido que se une específicamente a la neurona o nervio, o a un componente de cualquiera de ellos, y (b) un agente fotosensibilizante, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124),

5FAM-QVPWEEPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el método comprende además exponer la neurona o nervio humanos a una fuente de luz

que activa el agente fotosensibilizante.

En algunas realizaciones, el agente fotosensibilizante se selecciona del grupo que consiste en: una porfirina, clorina, y colorante.

En algunas realizaciones, el agente fotosensibilizante se selecciona del grupo que consiste en: porfirina, protoporfina IX, puritina, verteporfina, HPPH, temoporfina, azul de metileno, fotofrina, protofrina, hematoporfirina, talaporfina, monoácido derivado de benzoporfirina, ácido 5-aminoleuvulinico, texapirina de lutecio, metaloftalocianina, metalo-naftocianinasulfobenzo-porfirazina, metalo-naftalocianinas, tetrasulfoftalocianina de zinc, bacterioclorinas, metaloclorinas, derivado de cloro, tetra(*m*-hidroxifenil)clorina (*m*THPC), feoforbida, dibromofluoresceína (DBF), IR700DX, naftalocianina, derivado de porfirina, y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos se administra mediante inyección intravenosa sistémica de un sujeto humano.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos se administra antes de un procedimiento quirúrgico. En algunas realizaciones, el procedimiento quirúrgico es un procedimiento quirúrgico de un cáncer. En algunas realizaciones, el procedimiento quirúrgico es un procedimiento quirúrgico de cáncer de próstata.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende: (a) un péptido que se une específicamente a una neurona humana, a un nervio humano, o a un componente de cualquiera de ellos, y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde dicha molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), y/o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones de la composición, el péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5).

- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-DLPDIIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6).
- 5 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8).
- 10 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10).
- 15 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12).
- 20 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13).
- 25 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16).
- 30 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21).
- 35 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22).
- 40 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24).
- 45 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26).
- 50 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28).
- 55 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119).
- 60 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120).
- 65 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121).

- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122).
- 5 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124).
- 10 En algunas realizaciones de la composición, el péptido comprende 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1).
- 15 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).
- 20 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5).
- 25 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7).
- 30 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9).
- 35 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10).
- 40 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12).
- 45 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13).
- 50 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16).
- 55 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21).
- 60 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es EEPPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23).
- En algunas realizaciones de la composición, el péptido es PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24).
- 65 En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYYVV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido es SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124).

En algunas realizaciones de la composición, el péptido se une a una carga. En algunas realizaciones, la carga es un fármaco, agente fotosensibilizante, o resto fluorescente.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Imágenes de fluorescencia de nervios ciáticos expuestos en ratones de tipo natural vivos después de la administración de 450 nmoles de HNP401 en tres ratones (izquierda) y NP41 (dos ratones, derecha). Se muestran los nervios ciáticos tanto izquierdo como derecho. FAM es la fluoresceína unida a la lisina C-terminal de cada secuencia peptídica. Las imágenes se obtuvieron con un instrumento Zeiss Lumar.

Figura 2: La cuantificación de imágenes de la figura 1 muestra que HNP 401 tiene un contraste similar (intensidad de fluorescencia nerviosa/intensidad de fluorescencia muscular) a NP41 (6,2 veces en comparación con 6,7 veces) con un marcaje de mayor intensidad tanto del nervio como del tejido muscular adyacente. 6 nervios, 3 ratones en total para HNP401 y 2 ratones (4 nervios) para NP41. Eje Y = intensidad fluorescente promedio (emisión de 515 nm) calculada en imageJ.

Figura 3: Aplicación tópica de péptidos de unión a nervios en secciones de nervio humano que muestran una alta unión de HNP401. La ganancia de exposición disminuyó (de 30 a 10) para HNP401 ya que la exposición en configuraciones idénticas, en comparación con otros patrones, se vio saturada por una señal alta.

Figura 4: Fluorescencia del nervio humano seccionado después de la aplicación tópica de NP41, HNP401 y HNP404. Los péptidos se aplicaron a 100 uM durante 20 minutos, seguido de un lavado con PBS y una obtención de imágenes en un microscopio confocal Nikon A1. Todas las imágenes están niveladas por igual.

Figura 5: Marcaje *in vivo* del nervio ciático de rata con HNP401.

Figura 6: Marcaje fluorescente del nervio cavernoso de la próstata de rata en ratas vivas. HNP301 es un péptido de unión a nervios de primera generación que no muestra tanto contraste para el marcaje del nervio prostático en comparación con HNP401.

Figura 7: Marcaje *in vivo* del haz neurovascular prostático con HNP401. Marcaje de haces de nervios autónomos con HNP401 en ratas vivas.

Figura 8: Selección de péptidos de unión a nervios HUMANOS identificados mediante presentación en fagos. Aplicación tópica de 100 mM de péptidos de unión a nervios humanos FAM-HNP401 (A), FAM-HNP402 (B), FAM-

HNP403 (C) en secciones seriadas de nervio sural humano fresco viable (imagen superior) y músculo temporal humano (imagen inferior). Para comparación, la aplicación tópica de 100 mM de carboxi-FAM (D) y el péptido seleccionado para su unión al nervio del ratón NP41-FAM (E). H&E de tinción de nervio y músculo (F). Todas las imágenes de fluorescencia se adquirieron en un microscopio Lumar con un aumento de 34X con una exposición de 2 s y niveladas por igual para su comparación. NTQTLAKAPEHT (NP41; SEQ ID NO: 15 de la patente estadounidense n.º 8.685.372 o la publicación de patente internacional n.º WO2010121023A2).

Figura 9: Comparación de FAM-HNP401 y FAM-NP41 en la unión y marcaje del nervio sural HUMANO. Aplicación tópica de 100 mM de HNP401-FAM en secciones de 10 mm de tejido nervioso del plexo braquial humano no fijado (A) y tejido del músculo temporal humano (D) mantenidos adyacentes en el mismo portaobjetos de vidrio y de los cuales se obtuvieron imágenes en un microscopio confocal con láser de excitación de 488 nm. Para comparación, se aplicó NP41-FAM al nervio (B) y al músculo (C) humanos en condiciones idénticas a las mencionadas para (A y D). Tinción H&E del nervio (C) y del músculo (F). Intensidad de la señal del perineuro del tejido nervioso tratado con HNP401-FAM (n=4) en comparación con NP41-FAM (n=4) (G). Contraste entre el nervio y el músculo de péptidos aplicados por vía tópica a secciones de tejido humano (n = 4) (H).

Figura 10: Unión diferencial de péptidos de unión a nervios a tejido HUMANO y de RATÓN. Tejido humano: determinación de la respuesta a la dosis óptima mediante la aplicación tópica de HNP401-FAM en secciones del nervio sural humano a una concentración final de 375 mM (A), 100 mM (B), 50 mM (C), 10 mM (D) y 1 mM (E), sometidas a obtención de imágenes mediante microscopía confocal con parámetros idénticos y niveladas por igual para fines comparativos. ** Brillo aumentado 2 veces para su visualización. Contraste entre el nervio y el músculo a alta concentración de 375 mM para FAM-NP41 (F y G) y FAM-HNP401 (H e I) sometidos a obtención de imágenes mediante microscopía confocal y nivelados para comparación directa. Tejido de ratón: nervio facial de ratón (flechas rojas) con músculo circundante tratado con 375 mM (J), 100 mM (K) de FAM-NP41 o 375 mM (L), 100 mM (M) de FAM-HNP401. Las imágenes de la fila inferior se adquirieron con el endoscopio Lumar con parámetros idénticos y son comparables. FAM-HNP401 muestra una alta unión del músculo en el tejido del ratón con un contraste deficiente en comparación con FAM-NP41.

Figura 11: Obtención de imágenes *in vivo* de péptidos de unión a nervios en ROEDORES con perfil farmacocinético después de la inyección i.v.. Imagen de fluorescencia *in vivo* del nervio ciático de ratones SKH1-Elite de 6 meses de edad a los cuales se inyectaron por vía i.v. 450 nmoles de FAM-HNP401 (A) o FAM-NP41 (B) y sometidos a obtención de imágenes en el endoscopio de imágenes Lumar 2 horas después de la inyección. La intensidad del nervio ciático, medida en imageJ, muestra un aumento de 2,3 veces en la unión para el péptido seleccionado para la unión al nervio humano (HNP401) frente al péptido seleccionado para la unión al nervio del ratón (NP41) (C). Sin embargo, el contraste entre el nervio y el músculo circundante para los dos péptidos es comparable a $5,79 \pm 0,81$ para FAM-HNP401 y $6,63 \pm 1,63$ para FAM-NP41 en el muslo del ratón (D). Imagen de fluorescencia *in vivo* del plexo nervioso prostático usando un sistema de obtención de imágenes quirúrgicas personalizado en tiempo real (E) y un microscopio para animales pequeños Lumar (F) 5 horas después de inyección en la vena de la cola de 2 μ moles de HNP401-FAM en una rata Sprague Dawley macho de 100 g. Se obtuvo una imagen del nervio ciático en la rata 5 horas después de la inyección sistémica de 2 μ moles de FAM-HNP401 (G). La curva de depuración sanguínea muestra la señal de FAM obtenida a partir de un volumen igual de extracciones de sangre de cinco ratones macho SKH1-Elite. A cada ratón se le inyectó por vía i.v. 100 nmol de FAM-HNP401 antes de la recolección de sangre en los puntos de tiempo de 1 min, 10 min, 20 min, 30 min, 1 h y 2 h (H).

Figura 12: HNP401 se une a los nervios HUMANOS (cutáneo cavernoso y antebraquial medio). Obtención de imágenes fluorescentes después de la aplicación tópica de FAM-HNP401 o FAM-NP41 100 μ M en secciones de 10 μ m en cinta de criosección del nervio dentro de la glándula prostática humana (fila superior, A y B) o del nervio cutáneo antebraquial medio humano (fila inferior, B y F). Se obtuvieron imágenes de los nervios inmediatamente después de la sección y la aplicación del péptido usando microscopía confocal. Análisis de inmunohistoquímica con doble marcador para el anticuerpo contra neurofilamento SMI312 (rojo) y núcleos teñidos con DAPI (azul) (C y G) de una sección fijada del nervio y la tinción H&E correspondiente (D y H) en portaobjetos de vidrio.

Figura 13: HNP401 se une a los nervios cavernosos HUMANOS. Aplicación tópica de FAM-HNP401 (A) o FAM-NP41 (B) 100 μ M en secciones de 10 μ m en cinta de criosección de nervios viables frescos no fijados de la glándula prostática, usando microscopía confocal. Inmunofluorescencia (C) del anticuerpo contra neurofilamento SMI312 en una sección fijada de nervio de la glándula prostática y tinción H&E correspondiente (D) en portaobjetos de vidrio. Estas imágenes se obtienen de pacientes diferentes a los que se muestran en la figura 5 de este documento.

Figura 14: Determinación del dominio de unión a nervios HUMANO de HNP401 mediante delección secuencial. Imágenes representativas de fluorescencia del nervio sural humano no fijado tratado por vía tópica con 100 μ M de HNP401 (A), HNP401-N-2 (B), HNP401-N4 (C), HNP401-N6 (D), HNP401-N8 (E), HNP401-N4 C-2 (F), HNP401-N4 C-4 (G), HNP401-N4 C-6 (H), HNP401-N4 C-8 (I) marcados con FAM.

Figura 15: Cuantificación de la unión a nervios de variantes de delección de HNP401. Cuantificación de la unión a nervios de cada variante de HNP401 que se muestra en la figura 7 (n = 5).

Figura 16: Marcaje fluorescente *in vivo* del nervio autónomo en roedores. Imagen fluorescente de bajo aumento que muestra la vejiga, el conducto deferente y la uretra que atraviesan la próstata con el nervio autónomo adyacente marcado con FAM-NP41 en ratones (A). Imagen de reflectancia de luz blanca de mayor aumento (B) e imagen en escala de grises de fluorescencia correspondiente (C) del nervio autónomo que discurre adyacente a la uretra. Cuantificación de la detección de nervios autónomos por fluorescencia en comparación con la detección por luz blanca en ratones (D) Se representó gráficamente el contraste entre el nervio y el músculo para reflectancia/fluorescencia para ramas nerviosas individuales. Los valores a la derecha de la línea indican que hay una mejor visualización con fluorescencia en comparación con la luz reflejada. Las imágenes (E-G) son análogas a (A-C) excepto que resaltan el marcaje dependiente de FAM-NP41 del nervio autónomo en la próstata de rata frente a ratón, y las imágenes de luz blanca muestran un nervio no visible (F). El nervio prostático marcado con FAM-NP41 también es detectable usando un microscopio quirúrgico Zeiss Pentero de grado clínico (H).

Figura 17: Comparación de FAM-HNP401 y FAM-NP41 en la unión y marcaje del nervio sural humano. Aplicación tópica de 100 μM de FAM-HNP401 en secciones de 10 μm de tejido del nervio sural humano no fijado (A) y de tejido del músculo temporal humano (E) mantenidos adyacentes en el mismo portaobjetos de vidrio y de los cuales se obtuvieron imágenes en un microscopio confocal con láser de excitación de 488 nm. Para comparación, se aplicó FAM-NP41 a una sección secuencial de nervio (B) y músculo (F) humanos en condiciones idénticas a las mencionadas para (A y E). Tinción H&E del nervio (C) y del músculo (G). Intensidad de la señal del perineuro del tejido nervioso tratado con FAM-HNP401 ($n=4$) en comparación con FAM-NP41 ($n=4$) (D). Contraste entre el nervio y el músculo de péptidos aplicados por vía tópica a secciones de tejido humano ($n = 4$) (H).

Figura 18: Obtención de imágenes *in vivo* de péptidos de unión a nervios en ratones y ratas con farmacocinética. Imagen de fluorescencia *in vivo* de nervios ciáticos de ratones SKH1 de 6 meses de edad a los cuales se han inyectado previamente por vía intravenosa 450 nmoles de FAM-HNP401 [$\sim 48,4$ mg/kg] (A) o FAM-NP41 [~ 39 mg/kg] (B). La intensidad del nervio ciático medida y cuantificada en imageJ mostró un aumento de 2,3 veces para FAM-HNP401 en comparación con FAM-NP41 (C). El contraste entre el nervio y el músculo para los dos péptidos fue comparable: $5,79 \pm 0,81$ para FAM-HNP401 y $6,63 \pm 1,63$ para FAM-NP41 (D). Imagen de fluorescencia *in vivo* del nervio ciático de rata 5 horas después de la inyección intravenosa de 2 μmoles de FAM-HNP401 [~ 54 mg/kg] (E). Imágenes del nervio prostático de rata obtenidas con un sistema de obtención de imágenes quirúrgicas personalizado en tiempo real (F) y un microscopio para animales pequeños Lumar (G) 5 horas después de la inyección intravenosa de 2 μmoles de FAM-HNP401. La curva de depuración sanguínea muestra la señal de FAM obtenida a partir de un volumen igual de extracciones de sangre de cinco ratones macho SKH1-Elite (H). A cada ratón se le inyectaron por vía intravenosa 100 nmol [~ 11 mg/kg] de FAM-HNP401 antes de la recolección de sangre en los puntos de tiempo de 1 min, 10 min, 20 min, 30 min, 1 h y 2 h.

Figura 19: HNP401 se une al nervio viable fresco de la glándula prostática y al nervio cutáneo antebraquial medio humano. Obtención de imágenes fluorescentes después de la aplicación tópica de FAM-HNP401 o FAM-NP41 100 μM en secciones de 10 μm en cinta de criosección del nervio dentro de la glándula prostática humana (fila superior, A y B) o del nervio cutáneo antebraquial medio humano (fila inferior, E y F). Se obtuvieron imágenes de los nervios inmediatamente después de la sección y la aplicación del péptido usando microscopía confocal. Análisis de inmunohistoquímica con doble marcador para el anticuerpo contra neurofilamento SMI312 (rojo) y núcleos teñidos con DAPI (azul) (C y G) de una sección fijada del nervio y la tinción H&E correspondiente (D y H) en portaobjetos de vidrio.

Figura 20: Comparación de secuencias truncadas para determinar la eficiencia de unión. Imágenes representativas de fluorescencia del nervio sural humano no fijado que se trataron por vía tópica con 100 μM de N-2 (A), N-4 (B), N-6 (C), N-8 (D), C-2 (E), C-4 (F), C-6 (G), C-8 (H) o HNP401 (I) marcados con FAM. Debido a su baja solubilidad, C-6 tuvo una concentración final de ~ 73 μM y C-8 tuvo una concentración final de $\sim 80,6$ μM para pruebas tóxicas. Se realizó una comparación de la intensidad de la señal de los péptidos normalizados a FAM-HNP401 para comprobar si hay una mejor unión (J). Se determinó el contraste normalizado entre el nervio sural y el músculo temporal para FAM-HNP401 y FAM-HNP401-N-2 (prueba de la t de Student, para datos independientes, unilateral, $p = 0,011$) (K).

Figura 21: Los colorantes alimenticios extinguen eficazmente la fluorescencia de FAM-NP41 en la vejiga. Se usó un ensayo de lector de placas fluorescentes para mostrar la extinción dependiente de la dosis de la fluorescencia de FAM-NP41. La eritrosina extra azulada (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) fue el extintor más eficiente con una extinción $> \sim 80\%$ a una relación de colorante a fluoresceína de 2,5 veces y una extinción $> 95\%$ a una relación de colorante a fluoresceína de 5X (A). Otros colorantes alimenticios sometidos a prueba incluyeron rojo Allura y amarillo oca. Para someter a prueba la extinción *in vivo*, se administraron, mediante inyección i.v. directa, 50 mg/kg de peso molecular 879,76 ($\sim 1,5$ μmoles por ratón de 25 g) a ratones a los que se les habían inyectado 150 nmoles de FAM-NP41 2 horas antes. Esto representa aproximadamente una dosis de colorante 10 veces mayor que la de FAM-NP41. Después de la obtención de las imágenes quedó algo de fluorescencia en la vejiga, por lo que se inyectó colorante adicional (30 μl , eritrosina extra azulada 10 mM) directamente en la vejiga. Se muestran imágenes de la vejiga de ratón sin extintor de colorante (B) y con adición de eritrosina extra azulada (intravenosa e intravejiga) (C) con extinción de fluorescencia en la vejiga hasta cerca del nivel de fondo. Probablemente no se necesitaría

colorante si este método se usara para pacientes humanos, ya que la cateterización de la vejiga en los pacientes podría iniciarse mientras se administra FAM-NP41 para poder eliminar por aclaramiento la fluorescencia en la vejiga.

Figura 22: TAMRA-NP41 marca el nervio autónomo amielínico en la glándula prostática de la rata. Imagen de fluorescencia de los fascículos nerviosos (flechas blancas) alrededor de la glándula prostática en una rata Sprague-Dawley macho viva, obtenida 15 minutos tras inyección i.v. de 500 nmol de NP41-TAMRA (A). Se sometió a ablación el tejido y se congeló sin fijar para validar la señal de fluorescencia del péptido mediante la obtención de imágenes confocales (B) e inmunohistoquímica con un anticuerpo contra TAMRA detectado con tinción secundaria con peroxidasa de rábano picante y diaminobencidina (C). Se usó tinción de anticuerpos contra tirosina hidroxilasa para validar la presencia de nervios autónomos (D), control negativo no primario (E).

Figura 23: selección de péptidos de unión a nervios humanos identificados mediante presentación en fagos. Aplicación tópica de 100 μ M de péptidos de unión a nervios humanos FAM-HNP401 (A), FAM-HNP402 (B), FAM-HNP403 (C) en secciones seriadas de nervio sural humano fresco viable (fila superior) y músculo temporal humano (fila inferior). Para comparación, la aplicación tópica de 100 M de carboxi-FAM (D) y el péptido seleccionado para su unión al nervio del ratón NP41-FAM (E). H&E de tinción de nervio y músculo (F). Todas las imágenes de fluorescencia se adquirieron en un microscopio Lumar con un aumento de 34X con una exposición de 2 s y niveladas por igual para su comparación.

Figura 24: selección de péptidos de unión a nervios humanos identificados mediante presentación en fagos. Aplicación tópica de 100 μ M de péptidos de unión a nervios humanos FAM-HNP401 (A), FAM-HNP402 (B), FAM-HNP403 (C) en secciones seriadas de nervio asa cervical humano fresco viable (fila superior) y nervio auricular mayor humano (fila inferior) del cuello de dos pacientes diferentes. Para comparación, la aplicación tópica de 100 μ M de carboxi-FAM (D) y el péptido seleccionado para su unión al nervio del ratón NP41-FAM (E). Todas las imágenes de fluorescencia se adquirieron en un microscopio Lumar con un aumento de 34X con una exposición de 2 s y niveladas por igual para su comparación.

Figura 25: Unión diferencial de péptidos de unión a nervios al tejido humano y de ratón. Determinación de la respuesta a la dosis óptima mediante la aplicación tópica de FAM-HNP401 en secciones del nervio laríngeo humano a una concentración final de 375 μ M (A), 100 μ M (B), 50 μ M (C), 10 μ M (D) y 1 μ M (E), sometidas a obtención de imágenes mediante microscopía confocal con parámetros idénticos y niveladas por igual para comparación. ** Brillo aumentado 2 veces para su visualización. El contraste entre el nervio y el músculo a alta concentración de 375 μ M para FAM-NP41 (F y G) y FAM-HNP401 (H e I) sometidos a obtención de imágenes mediante microscopía confocal y nivelados para comparación directa. Nervio facial de ratón (flechas rojas) con músculo circundante tratado con 375 μ M (J), 100 μ M (K) de FAM-NP41 o 375 μ M (L), 100 μ M (M) de FAMHNP401. Las imágenes de la fila inferior se adquirieron con el endoscopio Lumar con parámetros idénticos y son comparables. FAM-HNP401 muestra una alta unión del músculo en el tejido del ratón con un contraste deficiente en comparación con FAMNP41. La imagen confocal de alta resolución de baja concentración de FAM-HNP401 (10 μ M) en el nervio humano muestra la unión del péptido a los componentes estructurales no axonales del nervio (N).

Figura 26: Autofluorescencia del tejido nervioso humano. Aplicación tópica de 100 μ M de FAM-HNP401 (A) o sólo tampón (B) en secciones de 10 μ m de nervio sural humano no fijado, seguida de obtención de imágenes mediante microscopía confocal con parámetros de adquisición idénticos para comparación directa. Las imágenes se nivelaron por igual utilizando imageJ seguida de un aumento de brillo de 16 veces de (B) para su visualización.

Figura 27: Análisis de espectroscopía de masas de muestras de orina de ratones a los cuales se han inyectado los péptidos de unión a nervios. Picos de iones fragmentados de cisteína-FAM recolectados de la orina de ratones a los cuales se ha inyectado FAM-HNP401, lo que indica que el péptido se metaboliza (A). Se obtuvieron resultados similares con a los cuales se ha inyectado FAM-NP41 (B). Sin embargo, el ratón al cual se ha inyectado FAM-dNP41, donde el péptido está elaborado con d-aminoácidos, es detectable en la orina y no se metaboliza (C).

Figura 28: Estabilidad de péptidos en plasma humano *ex vivo* y líquido cefalorraquídeo de ratas. Péptido FAM-HNP401 detectado a los 5 min (A) y a las 2 horas (B) después de la incubación a 37 °C en plasma humano en una dosis de 53,2 mg/kg o 2 μ mol. Se añade un volumen igual de 1:1 de acetonitrilo:agua con ácido acético al 2 % para precipitar la materia proteica, se extrae el sobrenadante para su análisis por CL-EM en una columna de fase inversa C18 con gradiente de 9:1 H₂O+TFA al 0,05 %:acetonitrilo+TFA al 0,05 % a 1:9 H₂O+TFA al 0,05 %:acetonitrilo+TFA al 0,05 % en 20 min. El canal del detector de 450 nm muestra FAM-HNP401. El péptido permanece intacto 2 horas después de la incubación con x % de la composición 5 minutos después de la incubación con plasma humano. Péptido FAM-NP41 detectado a los 5 min (C) y 2 horas (D) después de la incubación a 37 °C en plasma humano en una dosis de 53,2 mg/kg o 2 μ mol, seguido de análisis de CL-EM con el método descrito anteriormente. De manera similar al resultado anterior, FAM-NP41 permanece intacto 2 horas después de la incubación con x % de la composición 5 minutos después de la incubación con plasma humano. FAM-HNP401 (E) y FAM-NP41 (F) también se sometieron a prueba en el líquido cefalorraquídeo de ratas 2 horas después de la incubación para demostrar la estabilidad de los péptidos en la circulación.

Figura 29: FAM-HNP401 se une al nervio viable fresco adquirido de la glándula prostática humana. Aplicación tópica de FAM-HNP401 (A) o FAM-NP41 (B) 100 μ M en secciones de 10 μ m de nervios no fijados de la glándula prostática, seguido de obtención de imágenes mediante microscopía confocal. Inmunofluorescencia para nervio usando el anticuerpo contra neurofilamento SMI312 (C) en una sección fijada del nervio de la glándula prostática y la tinción H&E correspondiente (D). Estas imágenes se obtienen de pacientes diferentes a los que se muestran en la figura 20.

Figura 30: Tabla de secuencias peptídicas y sus abreviaturas.

Descripción detallada de la invención

I. Introducción

Se divulgan en el presente documento, en determinadas realizaciones, moléculas de direccionamiento que comprenden un péptido que se une específicamente a una neurona humana, a un nervio humano, o a un componente de cualquiera de ellos. En algunas realizaciones, el péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, el péptido no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, el péptido no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, el péptido no es NTQTLAKAPEHT (NP41; SEQ ID NO: 19).

II. Definiciones

En la presente descripción, cualquier intervalo de concentración, intervalo de porcentaje, intervalo de razón, o intervalo de número entero debe entenderse que incluye el valor de cualquier número entero dentro del intervalo enumerado y, cuando sea apropiado, fracciones del mismo (tales como una décima y una centésima de un número entero), a menos que se indique lo contrario. Además, cualquier intervalo numérico enumerado en el presente documento relacionado con cualquier característica física, tal como subunidades poliméricas, tamaño o grosor, debe entenderse que incluye cualquier número entero dentro del intervalo enumerado, a menos que se indique lo contrario. Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" significa ± 20 % del intervalo, valor o estructura indicados, a menos que se indique lo contrario.

Debe entenderse que los términos "un" y "una", tal como se usan en el presente documento, se refieren a "uno o más" de los componentes enumerados. El uso de la alternativa (por ejemplo, "o") debe entenderse que significa una, ambas o cualquier combinación de las mismas de las alternativas.

Además, debe entenderse que los compuestos individuales, o grupos de compuestos, derivados de las diversas combinaciones de las estructuras y sustituyentes descritos en el presente documento, se divulgan en la presente solicitud en la misma medida que si cada compuesto o grupo de compuestos se expusiera individualmente. Por tanto, la selección de estructuras particulares o sustituyentes particulares está dentro del alcance de la presente divulgación.

Tal como se usa en el presente documento, los siguientes términos tienen los significados atribuidos a ellos a menos que se especifique lo contrario.

El sistema nervioso central (SNC) consiste en el cerebro y la médula espinal, así como la retina.

El sistema nervioso periférico (SNP) se extiende fuera del SNC. El SNP se divide en el sistema nervioso somático y

el sistema nervioso autónomo.

Una neurona es una célula excitable eléctricamente que procesa y transmite información mediante señalización eléctrica y química.

Una neurona típica posee un cuerpo celular (a menudo denominado el soma), dendritas, y un axón.

Un nervio es un haz de axones neurales cerrado, similar a un cable. Cada nervio es una estructura en forma de cordón que contiene muchos axones. Cada axón está rodeado por una capa de tejido denominada endoneurio. Los axones se agrupan en grupos llamados fascículos, y cada fascículo se envuelve en una capa de tejido llamado perineurio. La neurona o nervio se envuelve en una capa de tejido denominada epineurio.

Tal como se usa en el presente documento, el término "molécula de direccionamiento" se refiere a cualquier agente (por ejemplo, péptido, proteína, polímero de ácido nucleico, aptámero o molécula pequeña) que se une específicamente a una diana de interés. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido, también denominado en el presente documento "péptido de direccionamiento". La diana de interés puede ser un tejido, un tipo celular, una estructura celular (por ejemplo, un orgánulo), una proteína, un péptido, un polisacárido o un polímero de ácido nucleico. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento es cualquier agente que se une específicamente a una o más neuronas o nervios de un sujeto. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende además una carga (por ejemplo, fármaco, marcador fluorescente, o agente fotosensibilizante).

Tal como se usa en el presente documento, el término "aptámero" se refiere a una molécula de oligonucleótido (por ejemplo, ADN, ARN, o XNA) que se ha seleccionado de conjuntos aleatorios basándose en su capacidad para unirse a otras moléculas con alta especificidad de afinidad basándose en interacciones no de Watson y Crick con la molécula diana (véase, por ejemplo, Cox y Ellington, *Bioorg. Med. Chem.* 9:2525-2531 (2001); Lee *et al.*, *Nuc.* 32: D95-D100 (2004) o un péptido corto (por ejemplo, de 5-20 aminoácidos) que está incorporado como un bucle dentro de un armazón proteico estable en lugar de como un péptido libre. Pueden seleccionarse aptámeros que se unen a ácido nucleico, proteínas, pequeños compuestos orgánicos, vitaminas, compuestos inorgánicos, células e incluso organismos completos. El péptido de direccionamiento puede comprender un aptámero o la secuencia peptídica de la molécula de direccionamiento puede estar en el formato de un aptámero peptídico.

Los términos "polipéptido", "péptido", y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos que se producen de manera natural, así como a polímeros de aminoácidos en los que uno o más restos de aminoácidos es un aminoácido que no se produce de manera natural (por ejemplo, un análogo de aminoácido). Los términos abarcan cadenas de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo proteínas de longitud completa (es decir, antígenos), en donde los residuos de aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos covalentes. Tal como se usa en el presente documento, el término "péptido" se refiere a un polímero de residuos de aminoácidos con una longitud que normalmente oscila desde 2 hasta aproximadamente 50 residuos. La longitud del péptido puede oscilar desde aproximadamente 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10 u 11 residuos hasta aproximadamente 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20 ó 15 residuos. La longitud del péptido puede oscilar desde aproximadamente 8, 9, 10, 11 ó 12 residuos hasta aproximadamente 15, 20 ó 25 residuos. Cuando se proporciona una secuencia de aminoácidos en el presente documento, también se contemplan versiones de aminoácidos L, D o beta de la secuencia, así como isoformas retro, inversión, y retro-inversión. Los péptidos también incluyen polímeros de aminoácidos en los que uno o más restos de aminoácidos es un análogo químico artificial de un aminoácido que se produce de manera natural correspondiente, así como polímeros de aminoácidos que se producen de manera natural. Además, el término se aplica a aminoácidos unidos por un enlace peptídico o por otros enlaces modificados (por ejemplo, donde el enlace peptídico se reemplaza por un α -éster, un β -éster, una tioamida, fosfonamida, carbamato, hidroxilato y similares (véase, por ejemplo, Spatola, (1983) *Chem. Biochem. Amino Acids and Proteins* 7: 267-357), donde la amida se reemplaza con una amina saturada (véase, por ejemplo, Skiles *et al.*, patente estadounidense n.º 4.496.542 y Kaltenbronn *et al.*, (1990) págs. 969-970 en *Proc. 11th American Peptide Symposium*, ESCOM Science Publishers, Países Bajos, y similares)).

El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos que se producen de manera natural y sintéticos, así como análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos que se producen de manera natural. Los aminoácidos que se producen de manera natural son los codificados por el código genético, así como los aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Un aminoácido puede ser un L- o D-aminoácido. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido que se produce de manera natural, es decir, un carbono que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina. Tales análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o estructuras principales peptídicas modificadas, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido que se produce de manera natural. Miméticos de aminoácidos se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de una manera similar a un aminoácido que se produce de manera natural.

Los aminoácidos pueden referirse en el presente documento por sus símbolos de tres letras comúnmente conocidos o por los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUP AC-IUB. Asimismo, los nucleótidos pueden referirse por sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados.

Un experto reconocerá que las sustituciones, deleciones o adiciones individuales a una secuencia de péptido, polipéptido o proteína que altera, añade o delecciona un único aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada es una "variante modificada de manera conservadora" donde la alteración da como resultado la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustituciones conservadoras que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares se conocen bien en la técnica. Tales variantes modificadas de manera conservadora son además de y no excluyen variantes polimórficas, homólogos interespecies y alelos de la invención tal como se define en las reivindicaciones.

Los ocho grupos siguientes contienen cada uno aminoácidos que son sustituciones conservadoras entre sí: 1) alanina (A), glicina (G); 2) ácido aspártico (D), ácido glutámico (E); 3) asparagina (N), glutamina (Q); 4) arginina (R), lisina (K); 5) isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), valina (V); 6) fenilalanina (F), tirosina (Y), triptófano (W); 7) serina (S), treonina (T); y 8) cisteína (C), metionina (M) (véase, por ejemplo, Creighton, *Proteins* (1984)).

"Identidad de secuencia", tal como se usa en el presente documento, se refiere al porcentaje de residuos de aminoácidos en una única secuencia que son idénticos a los residuos de aminoácidos en otra secuencia polipeptídica de referencia después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y no considerando ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. Los valores de porcentaje de identidad de secuencia pueden generarse usando el software NCBI BLAST 2.0 como se define por Altschul *et al.* (1997), Nucl. 25:3389-3402, con los parámetros ajustados a valores por defecto.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "marcador" se refieren a una molécula que facilita la visualización y/o detección de una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento. El marcador puede ser un resto fluorescente.

La expresión "se une específicamente" cuando se refiere a la interacción entre una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento y una diana (por ejemplo, proteína purificada, tejido neuronal o nervioso, neurona o nervios, neurona o nervios craneales, neurona o nervios centrales, neurona o nervios mielinizados o no mielinizados, o tejido conectivo que rodea la neurona o nervios), se refiere a la formación de un enlace de alta afinidad entre la molécula de direccionamiento y la diana. Además, el término significa que la molécula de direccionamiento tiene baja afinidad por no dianas.

"Unión selectiva", "selectividad", y similares se refieren a la preferencia del agente para interactuar con una molécula en comparación con otra. Preferiblemente, las interacciones entre una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento y una diana son tanto específicas como selectivas. Obsérvese que un agente puede diseñarse para "unirse específicamente" y "unirse selectivamente" a dos dianas distintas, pero similares, sin unirse a otras dianas indeseables.

Los términos "individuo", "paciente", o "sujeto" se usan indistintamente. Tal como se usa en el presente documento, significan cualquier mamífero (es decir, especies de cualquier orden, familia y género dentro de la clasificación taxonómica Animalia: Chordata: Vertebrata: Mammalia). El mamífero puede ser una vaca, caballo, oveja, cerdo, gato, perro, cabra, ratón, rata, conejo, cobaya, primate no humano o ser humano. Ninguno de los términos requiere la supervisión (por ejemplo, constante o intermitente) de un profesional sanitario (por ejemplo, un médico, una enfermera titulada, una enfermera especialista, un asociado médico, un celador o un trabajador de cuidados paliativos).

Los términos "administrar", "que administra(n)", "administración", y similares, tal como se usan en el presente documento, se refieren a los métodos que pueden usarse para permitir el suministro de agentes o composiciones al sitio deseado de acción biológica. Estos métodos incluyen inyección parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intravascular, intratecal, intravítrea, infusión o local). Las técnicas de administración que se emplean opcionalmente con los agentes y métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, tal como se comenta en Goodman y Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, edición actual; Pergamon; y Remington's, *Pharmaceutical Sciences* (edición actual), Mack Publishing Co., Easton, Pa. En algunas realizaciones, la administración es mediante inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos.

El término "farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un material que no anula la actividad o propiedades biológicas de los agentes descritos en el presente documento, y es relativamente no tóxico (es decir, la toxicidad del material supera significativamente el beneficio del material). En algunos casos, un material farmacéuticamente aceptable puede administrarse a un individuo sin provocar efectos biológicos indeseables significativos o interactuar significativamente de manera perjudicial con cualquiera de los componentes de la composición en la que está contenido.

El término "cirugía", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier método que puede usarse para manipular, cambiar, o provocar un efecto mediante una intervención física. Estos métodos incluyen cirugía abierta, cirugía endoscópica, cirugía laparoscópica, cirugía mínimamente invasiva, cirugía robótica, cualquier procedimiento que pueda afectar a cualquier neurona o nervio, tal como la colocación de retractores durante la cirugía espinal, ablación de neuronas o nervios cardíacos, inyección epidural, inyecciones intratecales, bloqueos de neuronas o nervios, implantación de dispositivos tales como estimuladores de neuronas o nervios e implantación de bombas. El sujeto de la cirugía puede ser un sujeto humano o un paciente humano.

III. Dianas

En el presente documento se divulgan moléculas de direccionamiento a neuronas y/o nervios humanos que se unen específicamente a una diana de neuronas o nervios humanos.

En algunas realizaciones, la diana es una neurona o nervio humanos. El nervio es cualquier nervio humano (por ejemplo, nervios motores, nervios sensoriales, nervios simpáticos y parasimpáticos, haz neurovascular periprostático, nervios ciáticos, nervios craneales que incluyen nervio olfativo, nervio óptico, nervio oculomotor, nervio troclear, nervio trigémino, nervio abducens, nervio facial, nervio vestibulocochlear, nervio glosofaríngeo, nervio vago, nervio accesorio, nervio hipogloso, nervios espinales, plexo braquial o plexo lumbosacral). La neurona es cualquier neurona (por ejemplo, neuronas sensoriales (neuronas aferentes), neuronas motoras (neuronas eferentes), interneuronas, neuronas unipolares, neuronas bipolares, neuronas multipolares, células en cesta, células de Betz, neuronas espinosas medias, células de Purkinje, células piramidales, células de Renshaw, células de gránulos, células del asta anterior). La neurona o nervio humano puede estar mielinizado. La neurona o nervio puede estar no mielinizado. La neurona o nervio humano puede estar desmielinizado. La neurona o nervio humanos puede estar experimentando desmielinización.

En algunas realizaciones, la diana de neuronas y/o nervios es un componente de una neurona o nervio humanos. El componente de una neurona o nervio humanos es cualquier componente de una neurona o nervio. La diana puede ser tejido dentro o alrededor de una neurona o nervio (por ejemplo, epineurio, perineurio o endoneurio). La diana puede ser un componente de mielina (por ejemplo, proteína básica de mielina (MBP), glicoproteína de oligodendrocitos de mielina o proteína proteolipídica). La diana puede expresarse por células de Schwann (por ejemplo, MBP, proteína ácida fibrilar glial, S-100 o proteína de mielina cero). La diana puede ser un componente de tejido neuronal o nervioso (por ejemplo, elastina, fibrilina, e-cadherina, citoqueratina, vimentina, colágeno I, colágeno, III, colágeno IV o colágeno V). La diana puede ser un receptor de factor neurotrófico expresado en neuronas o nervios (por ejemplo, receptores de tirosina cinasa TrkA, TrkB y TrkC, receptor de crecimiento nervioso o neuronal de baja afinidad o receptor de neurotrofina p75, o receptor alfa-1 o -2 de la familia GDNF). La diana puede ser un receptor de factor no neurotrófico expresado en un tejido neuronal o nervioso (por ejemplo, receptores de factor de crecimiento epitelial, receptores de factor de crecimiento transformante beta, receptores de factor de crecimiento endotelial vascular, receptores de endotelina A, receptores de endotelina B y receptores de integrina).

La determinación de si una molécula de direccionamiento a neuronas y/o nervios es capaz de unirse a una neurona o nervio humanos o componente de los mismos se logra mediante cualquier método adecuado. El método para determinar si una molécula de direccionamiento a neuronas y/o nervios es capaz de unirse a una neurona o nervio humanos o componente de los mismos puede implicar poner en contacto una molécula de direccionamiento (por ejemplo, péptido o aptámero) divulgada en el presente documento con un agente de ensayo durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que la molécula de direccionamiento y el agente de ensayo formen un complejo de unión. El complejo de unión se detecta usando cualquier método adecuado. Los ensayos de unión adecuados pueden realizarse *in vitro* o *in vivo* e incluyen presentación en fagos, selecciones de dos híbridos, coprecipitación, reticulación y clonación de expresión (véase, por ejemplo, Bennet, J.P. y Yamamura, H.I. (1985) Neurotransmitter, Hormone or Drug Receptor Binding Methods, en Neurotransmitter Receptor Binding (Yamamura, H.L., *et al.*, eds.), págs. 61-89. Otros ensayos de unión implican el uso de espectrometría de masas o técnicas de RMN para identificar moléculas unidas a la diana de interés. La molécula de direccionamiento usada en tales ensayos puede expresarse, clonarse o sintetizarse de manera natural.

La molécula de direccionamiento puede ser capaz de atravesar la barrera hematoencefálica para alcanzar y unirse a la neurona o nervio humanos de interés.

IV. Aptámeros y péptidos de moléculas de direccionamiento

Se proporcionan en la presente divulgación péptidos que se unen a nervios autonómicos y motores/sensoriales humanos y pueden usarse en moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos de la presente invención tal como se define por las reivindicaciones. En algunas realizaciones, un péptido de direccionamiento comprende una secuencia de aminoácidos de SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2

con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, los péptidos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden comprender una secuencia de aminoácidos de aproximadamente 8 a aproximadamente 25 aminoácidos (por ejemplo, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, ó 25 aminoácidos), de aproximadamente 10 a aproximadamente 23 aminoácidos, o de aproximadamente 15 a aproximadamente 21 aminoácidos que comprende el dominio de unión al núcleo de PYYVVKK (SEQ ID NO: 40). En algunas realizaciones, los péptidos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden comprender una secuencia de aminoácidos de aproximadamente 13 a aproximadamente 25 aminoácidos que comprende el dominio de unión al núcleo de PYYVVKK (SEQ ID NO: 40) y una secuencia N-terminal de QVPWEE (SEQ ID NO: 41). En algunas realizaciones, los péptidos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden comprender un dominio de unión al núcleo de aminoácidos de PYY (SEQ ID NO: 116) o PYYVV (SEQ ID NO: 117) y una secuencia N-terminal de QVPWEE (SEQ ID NO: 41). En algunas realizaciones, los péptidos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden comprender un dominio de unión al núcleo de aminoácidos de PYY (SEQ ID NO: 116) y una secuencia N-terminal de QVPWEE (SEQ ID NO: 41). En algunas realizaciones, los péptidos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden comprender un dominio de unión al núcleo de aminoácidos de PYYVV (SEQ ID NO: 117) y una secuencia N-terminal de QVPWEE (SEQ ID NO: 41).

Una realización de este tipo es un péptido de QVPWEEPPYYVVKK (SEQ ID NO: 42). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, el péptido no es NTQTLAKAPEHT (NP41; SEQ ID NO: 19).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7),

SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), y QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21).

- 5 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2).
- 10 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4).
- 15 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6).
- 20 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7).
- 25 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9).
- 30 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11).
- 35 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12).
- 40 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14).
- 45 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20).
- 50 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21).
- 55 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23).
- 60 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24).
- En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).
- 65

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26).

5 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28).

10 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEPPYYVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119).

15 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120).

20 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122).

25 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124).

30 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPYYVKKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

La molécula de direccionamiento puede comprender un aptámero.

35 Los péptidos y aptámeros de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones se sintetizan mediante cualquier método adecuado. Por ejemplo, los aptámeros y péptidos de direccionamiento de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden sintetizarse químicamente mediante síntesis de péptidos en fase sólida. En algunas realizaciones, los péptidos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones están acilados en el extremo N-terminal ("Ac" o "acetilo"), amidados en el extremo C-terminal ("CONH₂" o "NH₂"), o ambos. Por ejemplo, el péptido de direccionamiento puede comprender Ac-SGQVPWEEPYYVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 43), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 44), Ac-DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 45), Ac-SGQVPWEEPYYVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 46), Ac-QVPWEEPYYVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 47), Ac-QVPWEEPYYVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-QVPWEEPYYVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 48), Ac-PWEPPYYVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 49), Ac-PWEPPYYVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 50), Ac-EEPPYYVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 51), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 52), Ac-SGQVPWEEPYYVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 53), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 54), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 55), Ac-SGQVPWEEPPGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), SGQVPWEEPYYVKKSS-CONH₂ (HNP 401; SEQ ID NO: 56), WEYHYVDLNWTSQHPQ-CONH₂ (HNP 402; SEQ ID NO: 57), DLPDIWDFNWETA-CONH₂ (HNP 403; SEQ ID NO: 58), SGQVPWEEPYYVKKSSGGC-CONH₂ (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 59), WEYHYVDLNWTSQHPQGGC-CONH₂ (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 60), DLPDIWDFNWETAGGC-CONH₂ (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 61), DTHAHAKPRVPAFKSV-CONH₂ (HNP 404; SEQ ID NO: 62), QVPWEEPYYVKKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 63), QVPWEEPYYVKKSSGG-CONH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 64), PWEPPYYVKKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 65), EEPYYVKKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 66), PYYVKKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 67), SGQVPWEEPYYVKKGGC-CONH₂ (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 68), SGQVPWEEPYYVGGC-CONH₂ (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 69), SGQVPWEEPYYGGC-CONH₂ (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 70),

SGQVPWEEPPGGC-CONH₂ (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 71), QVPWEEPPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 72), PWEPPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 73), EEPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 74), PYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 75), SGQVPWEEPPYYVVKK-CONH₂ (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 76), SGQVPWEEPPYYV-CONH₂ (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 77), SGQVPWEEPPY-CONH₂ (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 78), y SGQVPWEEP-CONH₂ (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 79), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401; SEQ ID NO: 80), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQ-CONH₂ (HNP402; SEQ ID NO: 81), Ac-DLPDIWDFNWETA-CONH₂ (HNP403; SEQ ID NO: 82), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC-CONH₂ (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 83), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC-CONH₂ (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 84), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC-CONH₂ (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 85), Ac-DTHAHAKPRVPAFKSV-CONH₂ (HNP 404; SEQ ID NO: 86), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 87), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGG-CONH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 88), Ac-PWEPPYYVVKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 89), Ac-EEPPYYVVKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 90), Ac-PYYVVKSSGGC-CONH₂ (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 91), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC-CONH₂ (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 92), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC-CONH₂ (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 93), Ac-SGQVPWEEPPYGGC-CONH₂ (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 94), Ac-SGQVPWEEPPGGC-CONH₂ (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 95), Ac-QVPWEEPPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 96), Ac-PWEPPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 97), Ac-EEPPYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 98), Ac-PYYVVKSS-CONH₂ (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 99), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKK-CONH₂ (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 100), Ac-SGQVPWEEPPYYV-CONH₂ (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 101), Ac-SGQVPWEEPPY-CONH₂ (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 102), o Ac-SGQVPWEEP-CONH₂ (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 103). Se describen técnicas para síntesis en fase sólida, por ejemplo, por Barany y Merrifield (1963) Solid-Phase Peptide Synthesis; págs. 3-284 en The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. Vol. 2: Special Methods in Peptide Synthesis, Part A.; Merrifield *et al.* (1963) J. Am. Chem. Soc, 85: 2149-2156, y Stewart *et al.* (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, 2ª ed. Pierce Chem. Co., Rockford, 111.

V. Carga

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, un péptido de direccionamiento comprende una secuencia de aminoácidos de SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEOPYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEOPYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEOPYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVG (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, el péptido no es NTQTLAKAPEHT (NP41; SEQ ID NO: 19).

En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une directamente a una carga. En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une indirectamente (por ejemplo, mediante un ligador) a una carga. En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une a una carga en su extremo N-terminal, en su extremo C-terminal, o en una posición interna (por ejemplo, a un aminoácido interno) del péptido o aptámero. Dos, tres, cuatro o más péptidos o aptámeros pueden unirse directa o indirectamente a una carga. En determinadas realizaciones, una carga es un fármaco, resto fluorescente, agente fotosensibilizante, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la carga es un fármaco. En algunas realizaciones, la carga es un resto fluorescente o un colorante fluorescente. En algunas realizaciones, la carga comprende un resto fluorescente o un colorante fluorescente. En algunas realizaciones, la carga es un agente fotosensibilizante. El péptido o aptámero puede unirse a dos o más restos de carga. Los dos o más restos de carga pueden ser el mismo resto o diferentes restos, o ser de la misma clase de restos de carga (por ejemplo, dos fármacos) o de diferentes clases de restos de carga (por ejemplo, un fármaco y un resto fluorescente).

Las clases comunes de colorantes fluorescentes incluyen xantenos tales como rodaminas, rodoles y fluoresceínas, y sus derivados; bimanos; cumarinas y sus derivados tales como umbeliferona y cumarinas de aminometilo; aminas aromáticas tales como dansilo; colorantes de escuarato; benzofuranos; cianinas fluorescentes; carbazoles; piranos de dicianometileno, polimetina, oxabenzantrano, xanteno, pirilio, carbostilo, perileno, acridona, quinacridona, rubreno, antraceno, coroneno, fenantreceno, pireno, butadieno, estilbeno, complejos de lantánido-quelato metálico, complejos de quelatos de metales de tierras raras, y derivados de tales colorantes. Se comentan colorantes fluorescentes, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 4.452.720; la patente estadounidense n.º 5.227.487; y la patente estadounidense n.º 5.543.295.

En algunas realizaciones, el resto o colorante fluorescente se selecciona del grupo que consiste en un xanteno; un bimano; una cumarina; una amina aromática; un benzofurano; una cianina fluorescente; un carbazol; un dicianometilpirano; polimetina; oxabenzantrano; pirilio; carbostilo; perileno; acridona; quinacridona; rubreno; antraceno; coroneno; fenantreceno; pireno; butadieno; estilbeno; porfirina; ftalocianina; complejos de lantánido-quelato metálico; complejos de quelatos de metales de tierras raras; FITC; Cy3; EGFP; proteína fluorescente cian (CFP); EGFP; 5-FAM; 6-FAM; FAM; fluoresceína, IAEDANS, EDANS y BODIPY FL; TRITC; Cy5; Cy3; YFP; 6-FAM; LC Red 640; Alexa Fluor 546; fluoresceína; tetrametilrodamina; dabculo; BODIPY FL; colorantes QSY 7, QSY 9, QSY 21 y BBQ-650.

En algunas realizaciones, la carga comprende colorantes de fluoresceína. Los colorantes de fluoresceína típicos incluyen 5-carboxifluoresceína, fluoresceína-5-isotiocianato, 5(6)-carboxifluoresceína, 5,6-dicarboxifluoresceína, 5-(y 6)-sulfofluoresceína, sulfonafluoresceína, fluoresceína de succinilo, 5-(y 6)-carboxilo SNARF-1, sulfonato de carboxifluoresceína, zwitterión de carboxifluoresceína, amonio cuaternario de carboxifluoresceína, fosfonato de carboxifluoresceína, carboxifluoresceína GABA, carboxifluoresceína-cys-CyS, 5'(6')-carboxifluoresceína, glutatión fluoresceína, y 6-carboxifluoresceína; pueden encontrarse ejemplos de otros colorantes de fluoresceína, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 6.008.379, la patente estadounidense n.º 5.750.409, la patente estadounidense n.º 5.066.580, y la patente estadounidense n.º 4.439.356. Una carga puede incluir un colorante de rodamina, tal como, por ejemplo, 5-(y 6)-carboxilo rodamina 110, tetrametilrodamina-6-isotiocianato, 5-carboxitetrametilrodamina, derivados de rodol de 5-carboxilo, tetrametil y tetraetilrodamina, difenildimetil y difenildietilrodamina, dinaftilrodamina, cloruro de sulfonilo 101 de rodamina (comercializado bajo el nombre comercial de TEXAS RED®), y otros colorantes de rodamina. Otros colorantes de rodamina pueden encontrarse, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 6.080.852; la patente estadounidense n.º 6.025.505; la patente estadounidense n.º 5.936.087; la patente estadounidense n.º 5.750.409. En algunas realizaciones, un resto de carga incluye un colorante de cianina, tal como, por ejemplo, Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7.

En algunas realizaciones, el resto de carga comprende fluoróforos. Los fluoróforos están disponibles comercialmente y puede empelarse cualquier fluoróforo conocido y/o disponible comercialmente como carga. En algunas realizaciones, el fluoróforo muestra espectros de excitación/emisión de fluorescencia verde (tal como, por ejemplo, 494 nm/519 nm), fluorescencia naranja (tal como, por ejemplo, 554 nm/570 nm), fluorescencia roja (tal como, por ejemplo, 590 nm/617 nm), o fluorescencia roja lejana (tal como, por ejemplo, 651 nm/672 nm). En algunas realizaciones, el fluoróforo es un fluoróforo con espectros de excitación y emisión en el intervalo de aproximadamente 350 nm a aproximadamente 775 nm. En algunas realizaciones, los espectros de excitación y emisión son de aproximadamente 346 nm/446 nm, de aproximadamente 494 nm/519 nm, de aproximadamente 554 nm/570 nm, de aproximadamente 555 nm/572 nm, de aproximadamente 590 nm/617 nm, de aproximadamente 651 nm/672 nm, de aproximadamente 679 nm/702 nm o de aproximadamente 749 nm/775 nm. En algunas realizaciones, el fluoróforo puede incluir AlexaFluor 3, AlexaFluor 5, AlexaFluor 350, AlexaFluor 405, AlexaFluor 430, AlexaFluor 488, AlexaFluor 500, AlexaFluor 514, AlexaFluor 532, AlexaFluor 546, AlexaFluor 555, AlexaFluor 568, AlexaFluor 594, AlexaFluor 610, AlexaFluor 633, AlexaFluor 647, AlexaFluor 660, AlexaFluor 680, AlexaFluor 700, y AlexaFluor 750 (colorantes Molecular Probes AlexaFluor, disponibles de Life Technologies, Inc. (EE. UU.)). En algunas realizaciones, el fluoróforo puede incluir colorantes Cy, incluyendo Cy2, Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5 y Cy7 (disponibles de GE Life Sciences o Lumiprobos). En algunas realizaciones, el fluoróforo puede incluir Dylight 350, Dylight 405, Dylight 488, Dylight 550, Dylight 594, Dylight 633, Dylight 650, Dylight 680, Dylight 750 y Dylight 800 (disponibles de Thermo Scientific (EE. UU.)). En algunas realizaciones, el fluoróforo puede incluir FluoProbes 390, FluoProbes 488, FluoProbes 532, FluoProbes 547H, FluoProbes 594, FluoProbes 647H, FluoProbes 682, FluoProbes 752 y FluoProbes 782, AMCA, DEAC (ácido 7-dietilaminocumarin-3-carboxílico); 7-hidroxi-4-metilcumarin-3; 7-hidroxycumarin-3; MCA (ácido 7-metoxicumarin-4-acético); 7-metoxicumarin-3; AMF (4'-(aminometil)fluoresceína); 5-DTAF (5-(4,6-diclorotriazinil)aminofluoresceína); 6-DTAF (6-(4,6-diclorotriazinil)aminofluoresceína); FAM; 6-FAM (6-carboxifluoresceína), 5(6)-FAM cadaverina; 5-FAM cadaverina; 5(6)-FAM etilendiamina; 5-FAM etilendiamina; 5-FITC (isómero I de FITC; fluoresceína-5-isotiocianato); 5-FITC cadaverina; fluoresceína-5-maleimida; 5-IAF (5-yodoacetamidofluoresceína); 6-JOE (6-carboxi-4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxifluoresceína); 5-CRI 10 (5-carboxi-rodamina 110); 6-CRI 10 (6-carboxi-rodamina 110); 5-CR6G (5-carboxi-rodamina 6G); 6-CR6G (6-carboxi-rodamina 6G); 5(6)-carboxi-rodamina 6G cadaverina; 5(6)-carboxi-rodamina 6G etilendiamina; 5-ROX (5-carboxi-X-rodamina); 6-ROX (6-carboxi-X-rodamina); 5-TAMRA (5-carboxitetrametilrodamina); 6-TAMRA (6-carboxitetrametilrodamina); 5-TAMRA cadaverina; 6-TAMRA cadaverina; 5-TAMRA etilendiamina; 6-TAMRA etilendiamina; 5-TMR C6 maleimida; 6-TMR C6 maleimida; TR C2 maleimida; TR cadaverina; 5-TRITC; isómero G (tetrametilrodamina-5-isotiocianato); 6-TRITC; isómero R (tetrametilrodamina-6-isotiocianato); cadaverina de dansilo (5-dimetilaminonaftaleno-1-(N-(5-aminopentil))sulfonamida); EDANS C2

maleimida; fluorescamina; NBD; y pirrometeno y derivados de los mismos.

En algunas realizaciones, una carga comprende un fluoróforo o colorante fluorescente sensible al entorno. Los ejemplos de fluoróforos o colorantes fluorescentes sensibles al entorno incluyen 5,6-carboxi-dietil rodol (sensible al pH), merocianina (sensible al potencial de membrana), y ácido carboxílico con rojo Nilo (sensible a los lípidos).

En algunas realizaciones, una carga comprende un agente fotosensibilizante. un agente fotosensibilizante es cualquier agente o compuesto útil en terapia de ablación inducida por luz. Tales agentes, cuando se exponen a una longitud de onda de luz específica, reaccionan con oxígeno molecular para producir oxígeno singlete, que es altamente citotóxico. Por tanto, las moléculas de direccionamiento de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para lesionar focalmente los nervios. En determinadas realizaciones, un agente fotosensibilizante es una porfirina, clorina, o colorante. Los ejemplos de agentes fotosensibilizantes incluyen porfirina, protoporfina IX, purlitina, verteporfina, HPPH, temoporfin, azul de metileno, fotofrina, protofrina, hematoporfirina, talaporfina, monoácido derivado de benzoporfirina, ácido 5-aminoleuvolinico, texapirina de luteo, metalo-ftalocianina, metalo-naftocianinasulfobenzo-porfirinas, metalo-naftalocianinas, tetrasulfoftalocianina de zinc, bacterioclorinas, metaloclorinas, derivado de cloro, tetra(*m*-hidroxifenil)clorina (*m*THPC), feoforbida, dibromofluoresceína (DBF), IR700DX, naftalocianina, y derivados de porfirina. En algunas realizaciones, el agente fotosensibilizante se conjuga con un residuo de cisteína C-terminal de la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos mediante conjugación mediada por maleimida. Preferiblemente, el agente fotosensibilizante de la presente invención tal como se define por las reivindicaciones se activa por luz que tiene una longitud de onda de entre 400 nm y 700 nm. Todavía más preferiblemente, el agente fotosensibilizante en la presente invención tal como se define por las reivindicaciones se activa a 627 nm y 660 nm. Puede identificarse una dosis de luz óptima para generar la destrucción de nervios máxima con lesión mínima al tejido adyacente.

VI. Fármacos

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un fármaco. Todos los fármacos que actúan sobre una neurona o nervio (o un componente de los mismos) se abarcan dentro del término "fármaco." Los ejemplos específicos de fármaco dados en el presente documento son ilustrativos. En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une directamente a un fármaco. En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une indirectamente (por ejemplo, mediante un ligador) a un fármaco. Dos o más péptidos o aptámeros pueden unirse directa o indirectamente a un fármaco. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYVVGCG (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYVGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYVV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en SGQVPWEEPYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y 5FAM-QVPWEEPYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3).

3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

En algunas realizaciones, el fármaco se selecciona de un fármaco que: induce muerte celular (apoptótica o necrótica), inhibe la muerte celular (apoptótica o necrótica), inhibe la transmisión de una señal neuronal o nerviosa (es decir, un impulso electroquímico), inhibe la liberación de un neurotransmisor, agoniza la actividad de un receptor GABA, inhibe parcial o totalmente la repolarización de una neurona, altera la conducción de un canal iónico, o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, el fármaco es un antihistamínico, un modulador del receptor GABA, un inhibidor de la recaptación de neurotransmisores, un anestésico local, un anticolinérgico, un bloqueador de los canales de sodio, un bloqueador de los canales de calcio, una hormona liberadora de tirotrópina, a y-secretase inhibidor, un agonista o antagonista del receptor AMPA, un agonista o antagonista del receptor NMDA, un agonista o antagonista del receptor mGlu, un factor de crecimiento, un agente antiemético, un corticosteroide; un agente citotóxico; un antioxidante, un quelante de hierro, un modulador mitocondrial, un modulador de sirtuina, un modulador de óxido nítrico (NO) y/u óxido nítrico sintasa (NOS), un agonista o antagonista de los canales de potasio, un agonista o antagonista de los receptores purinérgicos, o una combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, el fármaco es meclizina, difenhidramina, dimenhidrinato, loratadina, quetiapina, mepiramina, piperoxán, antazolina, carbinoxamina, doxilamina, clemastina, feniramina, clorfenamina, clorfeniramina, dexclorfeniramina, bromfeniramina, triprolidina, ciclizina, clorciclizina, hidroxizina, prometazina, alimemazina, trimeprazina, ciproheptadina, azatadina, ketotifeno, oxatamida, clorhidrato de meclizina, clorhidrato de prometazina, cinarizina, pamoato de hidroxizina, diclorhidrato de betahistina, alprazolam, bromazepam, brotizolam, clordiazépoxido, clonazepam, clorazepato, diazepam, estazolam, flunitrazepam, flurazepam, loperazolam, lorazepam, lormetazepam, idazolam, nimetazepam, nitrazepam, oxazepam, prazepam, temazepam, triazolam, clonazepam, diazepam, lorazepam, furosemina, bumetanida, ácido etacrínico, gabapentina, pregabalina, muscimol, baclofeno, amitriptilina, nortriptilina, trimipramina, fluoxetina, paroxetina, sertralina, glicopirrolato, homatropina, escopolamina, atropina, benzocaína, carticaína, cincocaína, ciclometacaína, lidocaína, prilocaína, propoxicaína, proparacaína, tetracaína, tocaina, trimecaína, carbamazepina, oxcarbazepina, feniteína, ácido valproico, valproato de sodio, cinarizina, flunarizina, nimodipina, hormona liberadora de tirotrópina, amifostina (también conocida como WR-2721, o ETYOL®); un compuesto de carbamato (por ejemplo, monocarbamatos y dicarbamatos de 2-fenil-1,2-etanodiol); LY450139 (monobenzocaprolactam de hidroxilvalerilo); L685458 (éster terc-butílico del ácido IS-bencil-4R-[1-I-S-carbamoyl-2-fenilcarbamoyl]-IS-3-metilbutilcarbamoyl]-2R-hidroxi-5-fenilpentil]carbámico); LY411575 (N2-[(2S)-2-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-2-etanol]-N1[(7S)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-dibenzo[b]azepin-7il]-L-alaninamida); MK-0752; tarenflurbilo; BMS-299897 ácido (2-[(1R)-1-[(4-clorofenil)sulfonyl](2,5-difluorofenil)amino]etil]-5-fluorobencenopropanoico); CNQX (6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona); NBQX (2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamoyl-benzof[quinoxalina-2,3-diona); DNQX (6,7-dinitroquinoxalina-2,3-diona); ácido quinurénico; 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamoylbenzo-[f]quinoxalina; 1-aminoadamantano; dextrometorfano; dextrorfano; ibogaína; ketamina; óxido nítrico;

fenciclidina; riluzol; tiletamina; memantina; dizocilpina; aptiganel; remacimida; 7-cloroquinurenato; DCKA (ácido 5,7-dicloroquinurénico); ácido quinurénico; ácido 1-aminociclopropanecarboxílico (ACPC); AP7 (ácido 2-amino-7-fosfonoheptanoico); APV (R-2-amino-5-fosfonopentanoato); CPPene (ácido 3-[(R)-2-carboxipiperazin-4-il]-prop-2-enil-1-fosfónico); (+)-(1S,2S)-1-(4-hidroxi-fenil)-2-(4-hidroxi-4-fenilpiperidino)-1-propanol; (1S,2S)-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(4-hidroxi-4-fenilpiperidino)-1-propanol; (3R,4S)-3-(4-(4-fluorofenil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-croman-4,7-diol; (1R*, 2R*)-1-(4-hidroxi-3-metilfenil)-2-(4-(4-fluoro-fenil)-4-hidroxipiperidin-1-il)-propan-1-ol-mesilato; LY389795 ((-)-2-tia-4-aminobis(ciclo-hexano-4,6-dicarboxilato); LY379268 ((-)-2-oxa-4-aminobis(ciclo-hexano-4,6-dicarboxilato); LY354740 ((+)-2-aminobis(ciclo-hexano-2,6-dicarboxilato); DCG-IV ((2S,2'R,3'R)-2-(2',3'-dicarboxiciclopropil)glicina); 2R,4R-APDC (2R,4R-4-aminopirrolidina-2,4-dicarboxilato); (S)-3C4HPG ((S)-3-carboxi-4-hidroxifenilglicina); (S)-4C3HPG ((S)-4-carboxi-3-hidroxifenilglicina); L-CCG-I ((2S,1'S,2'S)-2-(carboxiciclopropil)glicina); ACPT-I (ácido (1S,3R,4S)-1-aminociclopentano-1,3,4-tricarboxílico); L-AP4 (ácido L-(+)-2-amino-4-fosfonobutírico); (S)-3,4-DCPG ((S)-3,4-dicarboxifenilglicina); (RS)-3,4-DCPG ((RS)-3,4-dicarboxifenilglicina); (RS)-4-fosfonofenilglicina ((RS)PPG); AMN082 (clorhidrato de N'-bis(difenilmetil)-1,2-etanodiamina); DCG-IV ((2S,2'R,3'R)-2-(2',3'-dicarboxiciclopropil)glicina); AMN082; factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF); neurotrofina-3; neurotrofina-4; receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); factor de crecimiento similar a insulina (IGF); un antibiótico aminoglicósido (por ejemplo, gentamicina y amikacina); un antibiótico macrólido (por ejemplo, eritromicina); un antibiótico glicopéptido (por ejemplo, vancomicina); ácido salicílico; nicotina; éter etílico del ácido eburnamenina-14-carboxílico; sipatrigina (2-(4-metilpiperazin-1-il)-5-(2,3,5-triclorofenil)-pirimidin-4-amina); amilorida (clorhidrato de 3,5-diamino-N-(aminoiminometil)-6-cloropirazinacarboxamida); carbamazepina (5H-dibenzo[b,f]azepina-5-carboxamida); TTX (octahidro-12-(hidroximetil)-2-imino-5,9:7,10a-dimetano-10aH-[1,3]dioxocino[6,5-d]pirimidina-4,7,10,11,12-pentol); RS100642 (clorhidrato de 1-(2,6-dimetil-fenoxi)-2-etilaminopropano); mexiletina (clorhidrato de (1-(2,6-dimetilfenoxi)-2-aminopropano)); QX-314 (bromuro de N-(2,6-dimetilfenilcarbamoilmetil)triethylamonio); fenitoína (5,5-difenilimidazolidina-2,4-diona); lamotrigina (6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina); 4030W92 (2,4-diamino-5-(2,3-diclorofenil)-6-fluorometilpirimidina); BW1003C87 (5-(2,3,5-triclorofenil) pirimidina-2,4-1,1-etanosulfonato); QX-222 (cloruro de 2-[(2,6-dimetilfenil)amino]-N,N,N-trimetil-2-oxoetanaminio); ambroxol (clorhidrato de trans-4-[(2-amino-3,5-dibromofenil)metil]amino]ciclohexanol); R56865 (N-[1-(4-(4-fluorofenoxi)butil]-4-piperidinil-N-metil-2-benzotiazolamina); lubeluzol; ajmalina ((17R,21alfa)-ajmalan-17,21-diol); procainamida (clorhidrato de 4-amino-N-(2-diethylaminoetil)benzamida); flecainida; riluzol; actenolide de triamicinolona; dexametasona; prometazina; proclorperazina; trimetobenzamida; trietilperazina; dolasetrón; granisetrón; ondansetrón; tropisetrón; y palonosetrón; droperidol; meclizina; perfenazina; perazina de tietilo; domperidona; properidol; haloperidol; clorpromazina; prometazina; proclorperazina; metoclopramida; dronabinol; nabilona; sativex; escopolamina; dexametasona; trimetobenzamina; emetrol; propofol; muscimol; carboxamida de acridina; actinomicina; 17-N-alilamino-17-demetoxigeldanamicina; amsacrina; aminopterina; antraciclina; antineoplásico; antineoplastons; 5-azacitidina; azatioprina; BL22; bendamustina; biricodar; bleomicina; bortezomib; briostatina; busulfán; caliculina; camptotecina; capecitabina; carboplatina; clorambucilo; cisplatino; cladribina; clofarabina; citarabina; dacarbazina; dasatinib; daunorubicina; decitabina; ácido dicloroacético; discodermolida; docetaxel; doxorubicina; epirubicina; epotilona; eribulina; estramustina; etopósido; extaecn; exisulind; ferruginol; floxuridina; fludarabina; fluorouracilo; fosfestrol; fotemustina; gemcitabina; hidroxiaurea; IT-101; idarubicina; ifosfamida; imiquimod; irinotecán; irofulvén; ixabepilona; laniquidar; lapatinib; lenalidomida; lomustina; lurtotecán; mafosfamida; masoprocól; mecloretamina; melfalán; mercaptopurina; mitomicina; mitotano; mitoxantrona; nelarabina; nilotinib; oblimersén; oxaliplatino; PAC-I; metotrexato (RHEUMATREX®, amopterina); ciclofosfamida (CYTOXAN®) talidomida (THALID OMID®); paclitaxel; pemetrexed; pentostatina; pipobromán; pixantrona; plicamicina; procarbazona; inhibidores del proteasoma (por ejemplo; bortezomib); raltitrexed; rebecamicina; rubitecán; SN-38; salinosporamida A; satraplatino; estreptozotocina; swainsonina; tariquidar; taxano; tegafur-uracilo; temozolomida; testolactona; tioTEPA; tioguanina; topotecán; trabectedina; tretinoína; tetranitrato de triplatino; tris(2-cloroetil)amina; troxacitabina; mostaza de uracilo; valrubicina; vinblastina; vincristina; vinorelbina; vorinostat; zosuquidar; N-acetilcisteína; vitamina E; vitamina C; vitamina A; luteína; glutatión de selenio; melatonina; un polifenol; un carotenoide; coenzima Q-10; ebselén (2-fenil-1,2-bencisoselenazol-3(2H)-ona (también denominada PZ 51 o DR3305); L-metionina; nitronas de azuleno; L-(+)-ergotioneína; CAPE (éster fenético del ácido cafeico); dimetilurea; dimetilsulfóxido; disulfentón de sodio; pentoxifilina; MCI-186; ambroxol; U-83836E; MitoQ (mesilato de mitoquinona); idebenona (2-(10-hidroxidecil)-5,6-dimetoxi-3-metil-ciclohexa-2,5-diene-1,4-diona); desferrioxamina; hidroxibenciletilendiamina; fulerenol-1, ditiocarbamato de pirrolidina; acetilcarnitina; ácido lipoico; un estilbeno; una chalcona; una flavona; una isoflavona; unas flavanonas; una antocianidina; una catequina; isonicotinamida; dipiridamol; ZM 336372; camptotecina; coumestrol; ácido nordihidroguaiarético; esculetina; SRT-1720; SRT-1460; SRT-2183; aminoguanidina; p-toluensulfato de 1-amino-2-hidroxiguanidina; GED; mesilato de bromocriptina; dexametasona; SDMA; ADMA; L-NMMA; L-NMEA; L-MMA; L-NIL; L-NNA; L-NPA; L-NAME; L-VNIO; cloruro de difenilnyodonio; 2-etil-2-tiopseudourea; haloperidol; L-NIO; MEG; SMT; SMTc; 7-Ni; inhibidor de nNOS; 1,3-PBITU; L-tiocitrulina; TRIM; MTR-105; BBS-I; BBS-2; ONO-1714; GW273629; GW 274150; PPA250; AR-R17477; AR-R18512; espiroquinazolona; 1400W; S-NC; NTG; SNP; taspargina; VEGF; bradiquinina; ATP; esfingosina-1-fosfata; estrógeno; angiopoyetina; acetilcolina; SIN-I; GEA 3162; GEA; GEA 5024; GEA 5538; SNAP; molsidomina; CNO-4; CNO-5; DEA/NO; IPA/NO; SPER/NO; SULFI/NO; OXI/NO; DETA/NO; nicorandilo; minoxidilo; levcromakalim; lemakalim; cromakalim; L-735,334; retigabina; flupirtina; BMS-204352; DMP-543; linopirdina; XE991; 4-AP; 3,4-DAP; E-4031; DIDS; Way 123,398; CGS-12066 A; dofetilida; sotalol; apamina; amiodarona; azimilida; bretilio; clofilio; tedisamilol; ibutilida; sematilida; nifekalant; tamulustoxina; ATP; ADP; UTP; UDP; UDP-glucosa; adenosina; 2-MESATP; 2-MESADP; ABMEATP; DATPAS; ATPrs; BZ-ATP; MRS2703; DENUFOSOL TETRASODIO; MRS2365;

MRS 2690; PSB 0474; A-317491; RO-3 (Roche); SURAMIN; PPADS; PPND; DIDS; piridoxal-5-fosfato; 5-(3-bromofenil)-1,3-dihidro-2H-benzofuro-[3,2-e]-1,4-diazepin-2-ona; azul de cibacrón; azul de basileno; ivermectina; A-438079; A-740003; NF023; NF449; NFI IO; NF157; MRS 2179; NF279; MRS 2211; MRS 2279; MRS 2500 sal tetrasódica; TNP-ATP; tetrametilpirazina; Ip5i; jQy-carboximetileno ATP; $\beta\gamma$ -clorofosfometileno ATP; KN-62; 5
 espinorfina; minociclina; SB-203580 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfimilofenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); PD 169316 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-nitrofenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); SB 202190 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-hidroxifenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); RWJ 67657 (4-[4-(4-fluorofenil)-1-(3-fenilpropil)-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-2-il]-3-butin-1-ol); SB 220025 (5-(2-amino-4-pirimidinil)-4-(4-fluorofenil)-1-(4-piperidinil)imidazol); D-JNKI-I ((D)-hJIPi75-i57-DPro-DPro-(D)-HIV-T
 AT57-48); AM-111 (Auris); SP600125 (antra[1,9-cd]pirazol-6(2H)-ona); inhibidor de JNK I ((L)-HIV-TAT48-57-PP-
 10 JBD20); inhibidor de JNK III ((L)-HIV-TAT47-57-gaba-c-Jun δ 33-57); AS601245 (1,3-benzotiazol-2-ilo (2-[[2-(3-piridinil)etil]amino]-4-pirimidinil)acetonitrilo); inhibidor de JNK VI (H2N-RPKRPTTLNLF-NH2); inhibidor de JNK VIII (N-(4-amino-5-ciano-6-etoxipiridin-2-il)-2-(2,5-dimetoxifenil)acetamida); inhibidor de JNK IX (N-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotien-2-il)-1-naftamida); dicumarol (3,3'-metilenobis(4-hidroxicumarina)); SC-236 (4-[5-(4-clorofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]benceno-sulfonamida); CEP-1347 (Cephalon); CEP-11004 (Cephalon); una proteína
 15 artificial que comprende al menos una porción de un polipéptido Bcl-2; un FNK recombinante; V5 (también conocido como péptido inhibidor de Bax V5); bloqueador de los canales de Bax (($\pm$)-1-(3,6-dibromocarbazol-9-il)-3-piperazin-1-il-propan-2-ol); péptido inhibidor de Bax P5 (también conocido como péptido inhibidor de Bax P5); Kp7-6; FAIM(S) (molécula corta inhibidora de apoptosis de Fas); FAIM(L) (molécula larga inhibidora de apoptosis de Fas); Fas:Fc; FAP-I; NOK2; F2051; F1926; F2928; ZB4; Fas M3 AcM; EGF; 740 Y-P; SC 3036 (KKHTDDGYMPMSPGVA);
 20 activador de PI 3-cinasa (Santa Cruz Biotechnology, Inc.); Pam3Cys ((S)-(2,3-bis(palmitoiloxi)-(2RS)-propil)-N-palmitoil-(R)-Cys-(S)-Ser(S)-Lys4-OH, triclorhidrato); Act1 (activador de NF-kB 1); un anticuerpo anti-DcB; ácido acetil-11-keto-b-boswélico; andrografolida; éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE); gliotoxina; isohelenina; péptido de unión al dominio de unión a NEMO (DRQIKWIFQNRRMKWKKTALD WSWLQTE); inhibidor de activación de NF-kB (6-Amino-4-(4-fenoxifeniletilamino)quinazolina); inhibidor de activación de NF-kB II (4-metil-NI-(3-fenilpropil)benceno-1,2-diamina); inhibidor de activación de NF-kB III (3-cloro-4-nitro-N-(5-nitro-2-tiazolil)-benzamida); inhibidor de activación de NF-kB IV ((E)-2-fluoro-4'-metoxiestilbeno); inhibidor de activación de NF-kB V (5-hidroxil-
 25 (2,6-diisopropilfenil)-1H-isoindol-1,3-diona); NF-kB SN50 (AAV ALLP A VLLALL AP VQRKRQKLMP); oridonina; partenolida; PPM-18 (2-benzoilamino-1,4-naftoquinona); Rol06-9920; sulfasalazina; péptido inhibidor de TIRAP (RQIKiWFNRRMKWKKLQLRD AAPGGAIVS); witaferina A; wogonina; BAY 11-7082 ((E)3-[(4-metilfenil)sulfonil]-2-propenonitrilo); BAY 11-7085 ((E)3-[(4-t-butilfenil)sulfonil]-2-propenonitrilo); (E)-capsaicina; aurotiomalato (ATM o AuTM); evodiamina; hipostéoxido; inhibidor de IKK III (BMS-345541); inhibidor de IKK VII; inhibidor de IKK X; inhibidor de IKK II; inhibidor de IKK-2 IV; inhibidor de IKK-2 V; inhibidor de IKK-2 VI; inhibidor de IKK-2 (SC-514); péptido inhibidor de I κ B cinasa; inhibidor de IKK-3 IX; ARRY-797 (Array BioPharma); SB-220025 (5-(2-amino-4-pirimidinil)-4-(4-fluorofenil)-1-(4-piperidinil)imidazol); SB-239063 (trans-4-[4-(4-fluorofenil)-5-(2-metoxi-4-pirimidinil)-1H-imidazol-1-il]ciclohexanol); SB-202190 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-hidroxifenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); JX-401 (-[2-Metoxi-4-(metilfenil)benzoil]-4-(fenilmetil)piperidina); PD-169316 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-nitrofenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); SKF-86002 (diclorhidrato de 6-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-5-(4-piridinil)imidazol-2-il-benzotiazol); SB-200646 (N-(1-metil-1H-indol-5-il)-N'-3-piridinilurea); CMPD-1 (2'-fluoro-N-(4-hidroxifenil)-[1,1'-bifenil]-4-butanamida); EO-1428 ((2-metilfenil)-[4-[(2-amino-4-bromofenil)amino]-2-clorofenil]metanona); SB-253080 (4-[5-(4-fluorofenil)-2-[4-(metilsulfonil)fenil]-1H-imidazol-4-il]piridina); SD-169 (1H-indol-5-carboxamida); SB-203580 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfonilfenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); TZP-101 (Tranzyme Pharma); TZP-102 (Tranzyme Pharma); GHRP-6 (péptido-6 liberador de hormona de crecimiento); GHRP-2 (péptido-2 liberador de hormona de crecimiento); EX-1314 (Elixir Pharmaceuticals); MK-677 (Merck); L-692,429 (butanamida, 3-amino-3-metil-N(2,3,4,5-tetrahidro-2-oxo-1-((2'-
 30 (1H-tetrazol-5-il)(1,1'-bifenil)-4-il)metil)-1H-benzazepin-3-il)-(R)); EP1572 (Aib-DTrp-DgTrp-CHO); diltiazem; metabolitos de diltiazem; BRE (proteína expresada en cerebro y órganos reproductores); verapamilo; nimodipina; diltiazem; omega-conotoxina; GVIA; amlodipina; felodipina; lacidipina; mibefradilo; NPPB (ácido 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino)benzoico); flunarizina; eritropoyetina; pipelina; hemina; brazilina; z-VAD-FMK (benciloxicarbonil-Val-Ala-Asp(OMe)-fluorometilcetona); z-LEHD-FMK (benciloxicarbonil-Leu-Glu(OMe)-His-Asp(OMe)-fluorometilcetona); B-D-FMK (boc-aspartil(Ome)-fluorometilcetona); Ac-LEHD-CHO (N-acetil-Leu-Glu-His-Asp-CHO); Ac-IETD-CHO (N-acetil-Ile-Glu-Thr-Asp-CHO); z-IETD-FMK (benciloxicarbonil-Ile-Glu(OMe)-Thr-Asp(OMe)-fluorometilcetona); FAM-LEHD-FMK (benciloxicarbonil-Leu-Glu-His-Asp-fluorometilcetona); FAM-LETD-FMK (benciloxicarbonil-Leu-Glu-Thr-Asp-fluorometilcetona); Q-VD-OPH (quinolina-Val-Asp-CH2-O-Ph); XIAP; cIAP-1; cIAP-2; ML-IAP; ILP-2; NAIP; survivina; Bruce; IAPL-3; fortalina; leupeptina; PD-150606 (ácido 3-(4-yodofenil)-2-mercapto-(Z)-2-propenoico); MDL-28170 (Z-Val-Phe-CHO); calpeptina; acetil-calpastatina; MG 132 (N-[(fenilmetoxi)carbonil]-L-leucil-N-[(1S)-1-formil-3-metilbutil]-L-leucinamida); MYODUR; BN 82270 (Ipsen); BN 2204 (Ipsen); AHLI-11 (Quark Pharmaceuticals), una
 55 proteína mdm2, pifitina-a (1-(4-metilfenil)-2-(4,5,6,7-tetrahidro-2-imino-3(2H)-benzotiazolil)etanona); trans-estilbeno; cis-estilbeno; resveratrol; piceatanol; rapontina; desoxirapontina; buteína; chalcona; isoliquiritigén; buteína; 4,2',4'-trihidroxichalcona; 3,4,2',4',6'-pentahidroxichalcona; flavona; morina; fisetina; luteolina; quercetina; kaempferol; apigenina; gossipetina; miricetina; 6-hidroxiapigenina; 5-hidroxiflavona; 5,7,3',4',5'-pentahidroxiflavona; 3,7,3',4',5'-pentahidroxiflavona; 3,6,3',4'-tetrahidroxiflavona; 7,3',4',5'-tetrahidroxiflavona; 3,6,2',4'-tetrahidroxiflavona; 7,4'-dihidroxiflavona; 7,8,3',4'-tetrahidroxiflavona; 3,6,2',3'-tetrahidroxiflavona; 4'-hidroxiflavona; 5-hidroxiflavona; 5,4'-dihidroxiflavona; 5,7-dihidroxiflavona; daidzeína; genisteína; naringenina; flavanona; 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavanona; cloruro de pelargonidina; cloruro de cianidina; cloruro de delfinidina; (-)-epicatequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4'; (-)-catequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',40; (-)-galocatequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4',5O (+)-catequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4'; (+)-epicatequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',41J; hinokitiol (b-tujaplicina; 2-hidroxil-4-isopropil-2,4,6-cicloheptatrien-1-ona); L-(+)-ergotioneína (sal interna de (S)-a-carboxi-2,3-dihidro-N,N,N-trimetil-2-

tioxo-1H-imidazol-4-etanaminio); éster fenílico del ácido cafeico; MCI-186 (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona); HBED (ácido N,N'-di-(2-hidroxibencil)etilendiamina-HN'-diacético «H₂O»); ambroxol (trans-4-(2-amino-3,5-dibromobencilamino)ciclohexano-HCl; y U-83836E ((-)-2-((4-(2,6-di-1-pirrolidinil-4-pirimidinil)-1-piperzainil)metil)-3,4-dihidro-2,5,7,8-tetrametil-2H-1-benzopiran-6-ol*2HCl); /5-1-5-metil-nicotinamida-2'-desoxirribosa; /S-D-l'-5-metil-nicotinamida-2'-desoxirribofuranósido; /3-1'-4,5-dimetil-nicotinamida-2'-desoxirribosa; /3-D-l'-4,5-dimetil-nicotinamida-2'-desoxirribofuranósido; 1-naftilo PP 1 (1-(1,1-dimetiloetil)-3-(1-naftalenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina); lavendustina A (ácido 5-[[[(2,5-dihidroxifenil)metil][(2-hidroxifenil)metil]amino]-2-hidroxibenzoico]); MNS (3,4-metilenodioxib-nitroestireno); PP 1 (1-(1,1-dimetiletil)-1-(4-metilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina); PP2 (3-(4-clorofenil)-1-(1,1-dimetiletil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina); KX1-004 (Kinex); KX1-005 (Kinex); KX1-136 (Kinex); KX1-174 (Kinex); KX1-141 (Kinex); KX2-328 (Kinex); KX1-306 (Kinex); KX1-329 (Kinex); KX2-391 (Kinex); KX2-377 (Kinex); ZD4190 (Astra Zeneca); N-(4-bromo-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-(2-(1H-1,2,3-triazol-1-il)etoxi)quinazolin-4-amina); AP22408 (Ariad Pharmaceuticals); AP23236 (Ariad Pharmaceuticals); AP23451 (Ariad Pharmaceuticals); AP23464 (Ariad Pharmaceuticals); AZD0530 (Astra Zeneca); AZM475271 (M475271; Astra Zeneca); dasatinib (N-(2-cloro-6-metilfenil)-2-(6-(4-(2-hidroxietil)-piperazin-1-il)-2-metilpirimidin-4-ilamino)tiazol-5-carboxamida); GN963 (sulfato de trans-4-(6,7-dimetoxiquinoxalin-2-ilamino)ciclohexanol); bosutinib (4-((2,4-dicloro-5-metoxifenil)amino)-6-metoxi-7-(3-(4-metil-1-piperazinil)propoxi)-3-quinolinacarbonitrilo); o combinaciones de los mismos.

VII. Restos fluorescentes

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además un resto fluorescente (por ejemplo, una proteína fluorescente, péptido, o molécula de colorante fluorescente). Todos los restos fluorescentes se abarcan dentro del término "resto fluorescente." Ejemplos específicos de restos fluorescentes dados en el presente documento son ilustrativos. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con

- ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24).
- 5 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26).
- 10 En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, el péptido no es NTQTLAKAPEHT (NP41; SEQ ID NO: 19).
- 20 En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une directamente a un resto fluorescente. En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une indirectamente (por ejemplo, mediante un ligador) a un resto fluorescente. En algunas realizaciones, el péptido o aptámero se une a un resto fluorescente en su extremo N-terminal, en su extremo C-terminal, o en una posición interna (por ejemplo, a un aminoácido interno) del péptido o aptámero. Dos o más péptidos o aptámeros pueden unirse directa o indirectamente a un único resto fluorescente.
- 30 Los ejemplos de colorantes fluorescentes incluyen xantenos (por ejemplo, rodaminas, rodos y fluoresceínas, y sus derivados); bimanos; cumarinas y sus derivados (por ejemplo, umbeliferona y cumarinas de aminometilo); aminas aromáticas (por ejemplo, dansilo; colorantes de escuarato); benzofuranos; cianinas fluorescentes; carbazoles; piranos de dicianometileno; polimetina; oxabenzantrano; xanteno; pirilio; carbostilo; perileno; acridona; quinacridona; rubreno; antraceno; coroneno; fenantreno; pireno; butadieno; estilbeno; porfirina; ftalocianina; complejos de lantánido-quelato metálico; complejos de quelatos de metales de tierras raras; y derivados de tales colorantes.
- 35 En algunas realizaciones, el resto fluorescente es un colorante de fluoresceína. Los ejemplos de colorantes de fluoresceína incluyen 5-carboxifluoresceína, fluoresceína-5-isotiocianato y 6-carboxifluoresceína, 5,6-dicarboxifluoresceína, 5-(y 6)-sulfofluoresceína, sulfonafluoresceína, fluoresceína de succinilo, 5-(y 6)-carboxilo SNARF-1, sulfonato de carboxifluoresceína, zwitterión de carboxifluoresceína, amonio cuaternario de carboxifluoresceína, fosfonato de carboxifluoresceína, carboxifluoresceína GABA, 5'(6')-carboxifluoresceína, carboxifluoresceína-cys-Cy5, y glutatión fluoresceína.
- 40 En algunas realizaciones, el resto fluorescente es un colorante de rodamina. Los ejemplos de colorantes de rodamina incluyen tetrametilrodamina-6-isotiocianato, 5-carboxitetrametilrodamina, derivados de rodol de 5-carboxilo, carboxilo rodamina 110, tetrametil y tetraetilrodamina, difenildimetil y difenildietilrodamina, dinaftilrodamina, cloruro de sulfonilo 101 de rodamina (comercializado bajo el nombre comercial de TEXAS RED®).
- 45 En algunas realizaciones, el resto fluorescente es un colorante de cianina. Los ejemplos de colorantes de cianina incluyen Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7.
- 50 En algunas realizaciones, el resto fluorescente es un péptido. En algunas realizaciones, el resto fluorescente es proteína verde fluorescente (GFP). En algunas realizaciones, el resto fluorescente es un derivado de GFP (por ejemplo, EBFP, EBFP2, Azurite, mKalamal, ECFP, Cerulean, CyPet, YFP, Citrine, Venus, YPet).
- 55 Los marcadores fluorescentes se detectan mediante cualquier método adecuado. Por ejemplo, un marcador fluorescente puede detectarse excitando el fluorocromo con la longitud de onda de luz apropiada y detectando la fluorescencia resultante, por ejemplo, mediante microscopía, inspección visual, mediante película fotográfica, mediante el uso de detectores electrónicos tales como dispositivos acoplados a carga (CCD), fotomultiplicadores, etc.
- 60 El resto fluorescente puede conjugarse con una molécula de alto peso molecular, tal como polímeros solubles en agua incluyendo dextrano, PEG, albúmina sérica, o dendrímero de poli(amidoamina).
- 65 Las moléculas de direccionamiento a modo de ejemplo según la presente invención tal como se definen por las

reivindicaciones incluyen: 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 105), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC-5FAM (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 106), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC-5FAM (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 107), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 108), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 109), Ac-EEPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 110), Ac-PYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 111), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC-5FAM (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 112), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC-5FAM (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 113), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC-5FAM (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 114), y Ac-SGQVPWEEPPGGC-5FAM (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 115).

VIII. Ligadores

En algunas realizaciones, una carga (por ejemplo, un resto fluorescente, agente fotosensibilizante, o fármaco) se une directamente a la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos, por ejemplo, en el extremo del péptido de direccionamiento. Alternativamente, en algunas realizaciones, una carga (por ejemplo, un resto fluorescente o fármaco) se une indirectamente a una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento (por ejemplo, mediante un ligador). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP40 con ligador GGC 3; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), y Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de

direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVKKGCC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYGCG (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPGCC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPYVVKKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es NTQTLAKAPEHT (SEQ ID NO: 19).

Tal como se usa en el presente documento, un "ligador" es cualquier molécula capaz de unirse (por ejemplo, de manera covalente) a una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento. Los ligadores incluyen ligadores de carbono de cadena lineal o ramificada, ligadores de carbono heterocíclico, ligadores de aminoácido (por ejemplo, D- o L-aminoácido), residuos lipófilos, ligadores de péptido, ligadores de ácido nucleico peptídico, ligadores de hidrazona, disulfuro de SPDB, sulfo-SPDB, ciclohexano-1-carboxilato de maleimidometilo (MCC), ligadores de ácido aminohexanoico, y ligadores de poliéter (por ejemplo, PEG). Por ejemplo, los ligadores de polietilenglicol están disponibles de Quanta Biodesign, Powell, OH. Estos ligadores tienen opcionalmente uniones amida, uniones sulfhidrilo, o uniones heterofuncionales.

En algunas realizaciones, el ligador se une a una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento mediante una unión covalente. En algunas realizaciones, la unión covalente comprende un enlace éter, un enlace tioéter, un enlace amida, enlace carbono-carbono, enlace carbono-nitrógeno, enlace carbono-oxígeno, o enlace carbono-azufre.

En algunas realizaciones, el ligador es flexible. En algunas realizaciones, el ligador es rígido.

En algunas realizaciones, el ligador comprende una estructura lineal. En algunas realizaciones, el ligador comprende una estructura no lineal. En algunas realizaciones, el ligador comprende una estructura ramificada. En algunas realizaciones, el ligador comprende una estructura cíclica.

En algunas realizaciones, el ligador es un alquilo. En algunas realizaciones, el ligador es heteroalquilo.

En algunas realizaciones, el ligador es un alquileo. En algunas realizaciones, el ligador es un alquenileo. En algunas realizaciones, el ligador es un alquinileo. En algunas realizaciones, el ligador es un heteroalquileo.

Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático. El resto alquilo puede ser un alquilo saturado o un alquilo insaturado. Dependiendo de la estructura, un grupo alquilo puede ser un monorradical o un dirradical (es decir, un grupo alquileo).

El resto "alquilo" puede tener de 1 a 10 átomos de carbono (siempre que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "de 1 a 10" se refiere a cada número entero en el intervalo dado; por ejemplo, "de 1 a 10 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta e incluyendo 10 átomos de carbono, aunque la presente definición también cubre la aparición del término "alquilo" donde no se designa ningún intervalo numérico). El grupo alquilo también podía ser un "alquilo inferior" que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. El grupo alquilo de los compuestos descritos en el presente documento puede designarse como "alquilo C1-C4" o designaciones similares. A modo de ejemplo sólo, "alquilo C1-C4" indica que hay de uno a cuatro átomos de carbono en la cadena de alquilo, es decir, la cadena de alquilo se selecciona de metilo, etilo, propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, y t-butilo. Los grupos alquilo típicos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, butilo terciario, pentilo, hexilo, etenilo, propenilo, butenilo, y similares.

En algunas realizaciones, el ligador comprende una estructura de anillo (por ejemplo, un arilo). Tal como se usa en el presente documento, el término "anillo" se refiere a cualquier estructura cerrada de manera covalente. Los anillos incluyen, por ejemplo, carbociclos (por ejemplo, arilos y cicloalquilos), heterociclos (por ejemplo, heteroarilos y heterociclos no aromáticos), aromáticos (por ejemplo, arilos y heteroarilos), y no aromáticos (por ejemplo, cicloalquilos y heterociclos no aromáticos). Los anillos pueden estar opcionalmente sustituidos. Los anillos pueden ser monocíclicos o policíclicos.

Tal como se usa en el presente documento, el término “arilo” se refiere a un anillo aromático en donde cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos de arilo pueden estar formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve, o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftalenilo, fenanthrenilo, anthracenilo, fluorenilo, e indenilo. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monorrádical o un dirradical (es decir, un grupo arileno).

El término “cicloalquilo” se refiere a un radical no aromático monocíclico o policíclico, en donde cada uno de los átomos que forman el anillo (es decir, átomos de esqueleto) es un átomo de carbono. Los cicloalquilos pueden estar saturados o parcialmente insaturados. Los grupos cicloalquilo incluyen grupos que tienen desde 3 hasta 10 átomos de anillo. Los cicloalquilos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, y ciclooctilo.

En algunas realizaciones, el anillo es un cicloalcano. En algunas realizaciones, el anillo es un cicloalqueno.

En algunas realizaciones, el anillo es un anillo aromático. El término “aromático” se refiere a un anillo plano que tiene un sistema de electrones π deslocalizados que contiene $4n+2$ electrones π , donde n es un número entero. Los anillos aromáticos pueden formarse a partir de cinco, seis, siete, ocho, nueve, o más de nueve átomos. Los aromáticos pueden estar opcionalmente sustituidos. El término “aromático” incluye tanto grupos arilo carbocíclico (por ejemplo, fenilo) como arilo heterocíclico (o “heteroarilo” o “heteroaromático”) (por ejemplo, piridina). El término incluye grupos monocíclicos o policíclicos de anillos condensados (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono).

En algunas realizaciones, el anillo es un heterociclo. El término “heterociclo” se refiere a grupos heteroaromáticos y heteroalíclicos que contienen de uno a cuatro heteroátomos seleccionados cada uno de O, S y N, en donde cada grupo heterocíclico tiene desde 4 hasta 10 átomos en su sistema de anillo, y con la condición de que el anillo de dicho grupo no contenga dos átomos de O o S adyacentes. Los grupos heterocíclicos no aromáticos incluyen grupos que tienen sólo 3 átomos en su sistema de anillo, pero los grupos heterocíclicos aromáticos deben tener al menos 5 átomos en su sistema de anillo. Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzocondensados. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 3 miembros es aziridinilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 4 miembros es azetidínilo (derivado de azetidina). Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 5 miembros es tiazolilo. Un ejemplo de un grupo heterocíclico de 6 miembros es piridilo, y un ejemplo de un grupo heterocíclico de 10 miembros es quinolinilo. Ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos son pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, tetrahidrotienilo, tetrahidropiranilo, dihidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, piperidino, morfolino, tiomorfolino, tiofanilo, piperazinilo, azetidínilo, oxetanilo, tietanilo, homopiperidinilo, oxepanilo, tiepanilo, oxazepínilo, diazepínilo, tiazepínilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, dítianilo, dítolanilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidínilo, imidazolinilo, imidazolidínilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, 3H-indolilo y quinolinizínilo. Ejemplos de grupos heterocíclicos aromáticos son piridinilo, imidazolilo, pirimidínilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, cinnolinilo, indazolilo, indolizínilo, ftalazinilo, piridazinilo, triazinilo, isoindolilo, pteridinilo, purinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo y furopiridinilo. Los grupos anteriores pueden estar unidos a C o unidos a N cuando sea posible. Por ejemplo, un grupo derivado de pirrol puede ser pirrol-1-ilo (unido a N) o pirrol-3-ilo (unido a C). Además, un grupo derivado de imidazol puede ser imidazol-1-ilo o imidazol-3-ilo (ambos unidos a N) o imidazol-2-ilo, imidazol-4-ilo o imidazol-5-ilo (todos unidos a C). Los grupos heterocíclicos incluyen sistemas de anillos benzocondensados y sistemas de anillos sustituidos con uno o dos restos oxo ($=O$) tales como pirrolidin-2-ona. Dependiendo de la estructura, un grupo heterociclo puede ser un monorrádical o un dirradical (es decir, un grupo heterociclénico).

En algunas realizaciones, el anillo está condensado. El término “condensado” se refiere a estructuras en las que dos o más anillos comparten uno o más enlaces, en algunas realizaciones, el anillo es un dímero. En algunas realizaciones, el anillo es un trímero. En algunas realizaciones, el anillo está sustituido.

El término “carbocíclico” o “carbociclo” se refiere a un anillo en el que cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. El carbociclo incluye arilo y cicloalquilo. El término distingue así carbociclo de heterociclo (heterocíclico) en el que la cadena principal del anillo contiene al menos un átomo que es diferente de carbono (es decir, un heteroátomo). El heterociclo incluye heteroarilo y heterocicloalquilo. Los carbociclos y heterociclos pueden estar opcionalmente sustituidos.

En algunas realizaciones, el ligador está sustituido. El término “opcionalmente sustituido” o “sustituido” significa que el grupo al que se hace referencia puede estar sustituido con uno o más grupos adicionales seleccionados individual e independientemente de alquilo Ci-Ce, cicloalquilo C3-Cg, arilo, heteroarilo, heteroalíclico C2-C6, hidroxilo, alcoxilo Ci-C6, ariloxilo, alquiltio Ci-C6, ariltio, alquilsulfóxido Ci-C6, arilsulfóxido, alquilsulfona Ci-C6, arilsulfona, ciano, halo, acilo C2-C8, aciloxilo C2-C8, nitro, haloalquilo Ci-C6, fluoroalquilo Ci-C6, y amino, incluyendo alquilamino Ci-C6, y los derivados protegidos de los mismos. A modo de ejemplo, un sustituyente opcional puede ser LSRS, en donde cada Ls se selecciona independientemente de un enlace, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(O)2-$, $-NH-$, $-NHC(O)-$, $-C(O)NH-$, $S(O)2NH-$, $-NHS(O)2-$, $-OC(O)NH-$, $-NHC(O)O-$, $-(alquilo\ CpC6)-$, o $-(alquenilo\ C2-C6)-$; y cada Rs se selecciona independientemente de H, (alquilo Ci-C4), (cicloalquilo C3-C8), heteroarilo, arilo, y heteroalquilo Ci-

C6. Los grupos no aromáticos opcionalmente sustituidos pueden estar sustituidos con uno o más oxo (=O). Los grupos protectores que pueden formar los derivados protectores de los sustituyentes anteriores son conocidos por los expertos en la técnica.

En algunas realizaciones, se usa un ligador bifuncional que tiene un grupo funcional reactivo con un grupo en una molécula (por ejemplo, una molécula de direccionamiento), y otro grupo reactivo en la otra molécula (por ejemplo, un resto fluorescente o un fármaco), para formar el conjugado deseado. Alternativamente, en algunas realizaciones, se realiza la derivatización para proporcionar grupos funcionales. Así, por ejemplo, también se conocen procedimientos para la generación de grupos sulfhidrilo libres en péptidos (véase la patente estadounidense n.º 4.659.839). Un ligador puede comprender alternativamente un reticulador heterobifuncional que comprende dos o más grupos reactivos diferentes que forman un anillo heterocíclico que puede interactuar con una molécula de direccionamiento. Por ejemplo, un reticulador heterobifuncional tal como cisteína puede comprender un grupo reactivo con amina y un grupo reactivo con tiol puede interactuar con un aldehído en una molécula de direccionamiento derivatizada. Las combinaciones adicionales de grupos reactivos adecuados para reticuladores heterobifuncionales incluyen, por ejemplo, grupos reactivos con amina y sulfhidrilo; grupos reactivos con carbonilo y sulfhidrilo; grupos reactivos con amina y fotorreactivos; grupos reactivos con sulfhidrilo y fotorreactivos; grupos reactivos con carbonilo y fotorreactivos; grupos reactivos con carboxilato y fotorreactivos; y grupos reactivos con arginina y fotorreactivos. Los ejemplos de un reticulador heterobifuncional incluyen 4-(2-piridilditio)butanoato de N-succinimidilo (SPDB) y ciclohexano-1-carboxilato de maleimidometilo (MCC).

En algunas realizaciones, se usa un ligador peptídico que consiste en uno o más aminoácidos para unir la molécula de direccionamiento y un resto fluorescente o fármaco. Generalmente, el ligador peptídico no tendrá actividad biológica específica distinta de unir las moléculas o conservar alguna distancia mínima u otra relación espacial entre ellos. Sin embargo, los aminoácidos constituyentes del ligador pueden seleccionarse para influir en alguna propiedad de la molécula, tal como el plegamiento, la carga neta o la hidrofobia. En algunas realizaciones, el ligador peptídico es relativamente corto, normalmente menos de aproximadamente 10 aminoácidos, preferiblemente menos de aproximadamente 8 aminoácidos y más preferiblemente menos de 5 aminoácidos. Los ejemplos incluyen ligadores de glicina y glicina-serina que pueden añadirse al extremo C de un péptido de direccionamiento. En algunas realizaciones, un ligador peptídico es un ligador de glicina-glicina-glicina-cisteína (GGGC), un ligador de glicina-glicina-cisteína (GGC), un ligador de glicina-glicina (GG) o un ligador de cisteína (C). En algunas realizaciones, el ligador GGGC, GGC, GG, o C se añade al extremo C-terminal de un péptido de direccionamiento.

IX. Modificaciones adicionales

Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones se conjugan opcionalmente con moléculas de alto peso molecular que aumentan la multivalencia y avidéz del marcaje. Las moléculas de alto peso molecular pueden ser polímeros solubles en agua. Los ejemplos de polímeros solubles en agua adecuados incluyen péptidos, sacáridos, poli(vinilos), poli(éteres), poli(aminas), poli(ácidos carboxílicos) y similares. Los polímeros solubles en agua pueden ser dextrano, polietilenglicol (PEG), polioxialquileño, poli(ácido siálico), almidón, o almidón de hidroxietilo. Cualquier método adecuado se usa para conjugar péptidos con polímeros solubles en agua (véase, Hermanson G., *Bioconjugate Techniques* 2ª ed., Academic Press, Inc. 2008). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), y 5FAM-

QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), Ac-QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), y Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es NTQTLAKAPEHT (SEQ ID NO: 19).

Las moléculas de direccionamiento de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden conjugarse con factores que tienen propiedades neurotróficas (por ejemplo, proteínas neurotróficas tales como factor de crecimiento nervioso (NGF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3), neurotrofina-4 (NT-4), factor neurotrófico derivado de línea celular glial (GDNF), factor neurotrófico ciliar (CNTF) así como moléculas pequeñas no proteicas con propiedades neurotróficas).

En algunas realizaciones, las moléculas de direccionamiento de la presente invención tal como se definen por las reivindicaciones pueden modificarse para aumentar la solubilidad. Las modificaciones de péptido que aumentan la solubilidad incluyen la adición de aminoácido(s) hidrófilo(s), un resto PEG, o ambos. Un resto PEG puede ser ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEA); ácido 12-amino-4,7,10-trioxadodecanoico; o ácido 15-amino-4,7,10,13-tetraoxapenta-decanoico. Pueden añadirse de aproximadamente uno a diez (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, o diez) aminoácidos hidrófilos al extremo N-terminal, extremo C-terminal, una posición interna, o cualquier combinación de los mismos, de la molécula de direccionamiento para aumentar la solubilidad. Los aminoácidos hidrófilos incluyen D, E, H, K, N, Q, R, S, T, y G. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un K, KK, G, o GG en el extremo N-terminal o extremo C-terminal.

X. Moléculas de direccionamiento multidominio

En determinadas realizaciones, las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos proporcionadas en el presente documento son moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios multidominio que comprenden dos o más péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios, en donde el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2),

- DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), o DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, el primer péptido comprende 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).
- Los dos o más péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios dentro de una molécula de direccionamiento multidominio pueden ser el mismo péptido de direccionamiento a neuronas o nervios, o son preferiblemente diferentes péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios. Las moléculas de direccionamiento multidominio pueden comprender un segundo péptido que comprende: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEP (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29); SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30); SHSTMKTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31); VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAPR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTNAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSPNRPPLTN (NP127; SEQ ID NO: 38), o NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39).

En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios se selecciona del grupo que consiste en: QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), y 5FAM-QVPWEEPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). El segundo péptido puede seleccionarse del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEP (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29); SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30); SHSTMKTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31); VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAPR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTNAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSPNRPPLTN (NP127; SEQ ID NO: 38), o NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39).

En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios comprende QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios es QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, el segundo péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), y SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con

ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29); SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30); SHSTMKTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31); VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAPR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTNAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRSLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSNRPPLNLN (NP127; SEQ ID NO: 38), o NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39).

En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios comprende QVPWEEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios es QVPWEEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). El segundo péptido puede seleccionarse del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29); SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30); SHSTMKTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31); VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAPR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTNAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRSLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSNRPPLNLN (NP127; SEQ ID NO: 38), o NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39).

En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios comprende SGQVPWEEPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios es SGQVPWEEPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). El segundo péptido puede seleccionarse del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29); SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30); SHSTMKTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31); VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAPR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTNAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRSLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSNRPPLNLN (NP127; SEQ ID NO: 38), o NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39).

En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios comprende 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, el primer péptido de direccionamiento a neuronas o nervios es 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). El segundo péptido puede seleccionarse del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWEA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWEAAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29), SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30), SHSTMTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31), VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAPR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTAAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRSLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSNRPPLNLTN (NP127; SEQ ID NO: 38), o NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39).

En algunas realizaciones, los péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios dentro de una molécula de direccionamiento multidominio se unen directamente entre sí. En algunas realizaciones, los péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios dentro de una molécula de direccionamiento multidominio se unen indirectamente entre sí, por ejemplo, mediante un ligador o carga. Los péptidos de direccionamiento pueden disponerse de manera lineal. Los péptidos de direccionamiento de una molécula de direccionamiento multidominio pueden disponerse en una estructura ramificada. Una molécula de direccionamiento multidominio puede comprender dos, tres, cuatro, cinco, o más péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios.

XI. Métodos de marcaje

Se divulgan en el presente documento métodos de marcaje una neurona o nervio (o componente de cualquiera de ellos) poniendo en contacto una neurona o nervio con una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWEA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWEAAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO:

1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), y QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es NTQTLAKAPEHT (SEQ ID NO: 19).

Una primera molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos puede administrarse en combinación (simultáneamente, de manera concurrente, o en serie) con una segunda molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos. La primera molécula de direccionamiento, la segunda molécula de direccionamiento, o ambas pueden comprender una carga. La carga de la primera molécula de direccionamiento, la carga de la segunda molécula de direccionamiento, o ambas pueden ser restos fluorescentes, que pueden ser los mismos restos fluorescentes o diferentes restos fluorescentes.

Una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos puede administrarse en combinación (simultáneamente, de manera concurrente, o en serie) con un resto fluorescente (por ejemplo, el resto fluorescente no se conjuga con la molécula de direccionamiento, resto fluorescente "libre"). El resto fluorescente puede ser una fluoresceína, por ejemplo, carboxifluoresceína.

La puesta en contacto puede producirse *in vivo*. La puesta en contacto puede producirse *in vitro*.

Una neurona o nervio (o componente de los mismos) puede marcarse para identificación durante cirugía. En algunas realizaciones, la cirugía es cirugía de cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de hígado (HCC), cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de estómago, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides, cáncer de testículo, cáncer urotelial, cáncer de pulmón, melanoma, tumores de células germinales testiculares, mesotelioma, y cáncer de esófago. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de próstata. En algunas realizaciones, el método comprende administrar una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento a un sujeto que se someterá a cirugía. En algunas realizaciones, el método comprende

administrar una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento a un sujeto que se somete a cirugía. En algunas realizaciones, una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento se administra a un paciente por vía sistémica. En algunas realizaciones, una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento se administra a un paciente por vía local.

XII. Administración de fármacos

Se divulgan en el presente documento, en determinadas realizaciones, unas moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso en métodos de administración de fármacos dirigidas. Una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos divulgada en el presente documento puede administrar un fármaco a una diana específica. En algunas realizaciones, una molécula de direccionamiento divulgada en el presente documento administra un fármaco a una neurona o nervio. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende además una carga. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), y QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la

molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es NTQTLAKAPEHT (SEQ ID NO: 19).

En algunas realizaciones, el fármaco es un agente que reduce el dolor (o bien la percepción del dolor o bien la actividad de un estimulante doloroso). En algunas realizaciones, el fármaco es un anestésico. En algunas realizaciones, el fármaco es benzocaína; carticaína; cincocaína; ciclotetacaína; lidocaína; prilocaína; propoxicaína; proparacaína; tetracaína; tocainida; y trimecaína; o una combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, el fármaco es un agente que modula la muerte (por ejemplo, mediante apoptosis o necrosis) de una neurona o nervio. En algunas realizaciones, el fármaco es un agente citotóxico. En algunas realizaciones, el fármaco es metotrexato (RHEUMATREX®, ametofterina); ciclofosfamida (CYTOXAN®); talidomida (THALIDOMID®); paclitaxel; pemetrexed; pentostatina; pipobromán; pixantrona; plicamicina; procarbazona; inhibidores del proteosoma (por ejemplo, bortezomib); raltitrexed; rebecamicina; rubitecán; SN-38; salinosporamida A; satraplatino; estreptozotocina; swainsonina; tariquidar; taxano; tegafur-uracilo; temozolomida; testolactona; tioTEPA; tioguanina; topotecán; trabectedina; tretinoína; tetranitrato de triplatino; tris(2-cloroetil)amina; troxacitabina; mostaza de uracilo; valrubicina; vinblastina; vincristina; vinorelbina; vorinostat; zosuquidar; o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el fármaco es un agente proapoptótico. En algunas realizaciones, el fármaco es un agente antiapoptótico. En algunas realizaciones, el fármaco se selecciona de minociclina; SB-203580 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfonilfenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); PD 169316 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-nitrofenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); SB 202190 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-hidroxifenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); RWJ 67657 (4-[4-(4-fluorofenil)-1-(3-fenilpropil)-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-2-il]-3-buten-1-ol); SB 220025 (5-(2-amino-4-pirimidinil)-4-(4-fluorofenil)-1-(4-piperidinil)-1H-imidazol); D-JNKI-1 ((D)-hJIP 175_i 57-DPro-DPro-(D)-HIV-TAT57-48); AM-111 (Auris); SP600125 (antra[1,9-cd]pirazol-6(2H)-ona); inhibidor de JNK I ((L)-HIV-T AT48-57-PP-JBD20); inhibidor de JNK III ((L)-HIV-TAT47-57-gaba-c-Jun533-57); AS601245 (1,3-benzotiazol-2-ilo (2-[[2-(3-piridinil)etil]amino]-4 pirimidinil)acetonitrilo); inhibidor de JNK VI (H2N-RPKRPTTLNLF-NH₂); inhibidor de JNK VIII (N-(4-amino-5-ciano-6-etoxipiridin-2-il)-2-(2,5-dimetoxifenil)acetamida); inhibidor de JNK IX (N-(3-ciano-4,5,6,7-tetrahidro-1-benzotien-1-il)-1-naftamida); dicumarol (3,3'-metilenobis(4-hidroxycumarina)); SC-236 (4-[5-(4-clorofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]benceno-sulfonamida); CEP-1347 (Cephalon); CEP-11004 (Cephalon); una proteína artificial que comprende al menos una porción de un polipéptido Bcl-2; un FNK recombinante; V5 (también conocido como péptido inhibidor de Bax V5); bloqueador de los canales de Bax ((±)-1-(3,6-dibromocarbazol-9-il)-3-piperazin-1-il-propan-2-ol); péptido inhibidor de Bax P5 (también conocido como péptido inhibidor de Bax P5); Kp7-6; FAIM(S) (molécula corta inhibidora de apoptosis de Fas); FAIM(L) (molécula larga inhibidora de apoptosis de Fas); Fas:Fc; FAP-1; N0K2; F2051; FI 926; F2928; ZB4; Fas M3 AcM; EGF; 740 Y-P; SC 3036 (KKHTDDGYMPMSPGVA); activador de PI 3-cinasa (Santa Cruz Biotechnology, Inc.); Pam3Cys ((S)-(2,3-bis(palmitoiloxi)-(2RS)-propil)-N-palmitoil-(R)-Cys-(S)-Ser(S)-Lys4-OH, triclorhidrato); Act1 (activador de NF-κB 1); un anticuerpo anti-DcB; ácido acetil-11-keto-b-boswélico; andrografólido; éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE); gliotoxina; isohelenina; péptido de unión al dominio de unión a NEMO (DRQIKIWFQNRRMKWKKTALDWSWLQTE); inhibidor de activación de NF-κB (6-amino-4-(4-fenoxifeniletilamino)quinazolina); inhibidor de activación de NF-κB II (4-metil-NI-(3-fenilpropil)benceno-1,2-diamina); inhibidor de activación de NF-κB III (3-cloro-4-nitro-N-(5-nitro-2-tiazolil)-benzamida); inhibidor de la activación de NF-κB IV ((E)-2-fluoro-4'-metoxiestilbeno); inhibidor de activación de NF-κB V (5-hidroxi-2,6-diisopropilfenil)-1H-isoindol-1,3-diona); NF-κB SN50 (AA VALLP A VLLALLP VQRKRQKLMP); oridonina; partenolida; PPM-18 (2-benzoilamino-1,4-naftoquinona); Ro106-9920; sulfasalazina; péptido inhibidor de TIRAP (RQIKIWFNRRMKWKKLQLRD AAPGG AIVS); witaferina A; wogonina; BAY 11-7082 ((E)3-[(4-metilfenil)sulfonil]-2-propenonitrilo); BAY 11-7085 ((E)3-[(4-t-butilfenil)sulfonil]-2-propenonitrilo); (E)-capsaicina; aurotiomalato (ATM o AuTM); evodiamina; hipostóxido; inhibidor de IKK III (BMS-345541); inhibidor de IKK VII; inhibidor de IKK X; inhibidor de IKK II; inhibidor de IKK-2 IV; inhibidor de IKK-2 V; inhibidor de IKK-2 VI; inhibidor de IKK-2 (SC-514); péptido inhibidor de IκB cinasa; inhibidor de IKK-3 LX; ARRY-797 (Array BioPharma); SB-220025 (5-(2-amino-4-pirimidinil)-4-(4-fluorofenil)-1-(4-piperidinil)-1H-imidazol); SB-239063 (trans-4-[4-(4-fluorofenil)-5-(2-metoxi-4-pirimidinil)-1H-imidazol-1-il]ciclohexanol); SB-202190 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-hidroxifenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); JX-401 (-[2-metoxi-4-(metiltio)benzoil]-4-(fenilmetil)piperidina); PD-169316 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-nitrofenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); SKF-86002 (diclorhidrato de 6-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-5-(4-piridinil)imidazo[2,1-b]tiazol); SB-200646 (N-(1-metil-1H-indol-5-il)-N'-3-piridinilurea); CMPD-1 (2'-fluoro-N-(4-hidroxifenil)-[1,1'-bifenil]-4-butanamida); EO-1428 ((2-metilfenil)-[4-[(2-amino-4-bromofenil)amino]-2-clorofenil]metanona); SB-253080 (4-[5-(4-fluorofenil)-2-[4-(metilsulfonil)fenil]-1H-imidazol-4-il]piridina); SD-169 (1H-indol-5-carboxamida); SB-203580 (4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfonilfenil)-5-(4-piridil)-1H-imidazol); TZP-101 (Tranzyme Pharma); TZP-102 (Tranzyme Pharma); GHRP-6 (péptido-6 liberador de hormona de crecimiento); GHRP-2 (péptido-2 liberador de hormona de crecimiento); EX-1314 (Elixir Pharmaceuticals); MK-677 (Merck); L-

692,429 (Butanamida, 3-amino-3-metil-N-(2,3,4,5-tetrahidro-2-oxo-1-((2'-(1H-tetrazol-5-il)(1,1'-bifenil)-4-il)metil)-1H-l-benzazepin-3-il)-, (R)-); EP1572 (Aib-DTrp-DgT ϕ -CHO); diltiazem; metabolitos de diltiazem; BRE (proteína expresada en cerebro y órganos reproductores); verapamilo; nimodipina; diltiazem; omega-conotoxina; GVIA; amlodipina; felodipina; lacidipina; mibefradilo; NPPB (ácido 5-nitro-2-(3-fenilpropilamino)benzoico); flunarizina; eritropoyetina; piperina; hemina; brazilina; z- V AD-FMK (benciloxicarbonil-Val-Ala-Asp(OMe)-fluorometilcetona); z-LEHD-FMK (benciloxicarbonil-Leu-Glu(OMe)-His-Asp(OMe)-fluorometilcetona); B-D-FMK (boc-aspartil(OMe)-fluorometilcetona); Ac-LEHD-CHO (N-acetil-Leu-Glu-His-Asp-CHO); Ac-IETD-CHO (N-acetil-Ile-Glu-Thr-Asp-CHO); z-IETD-FMK (benciloxicarbonil-Ile-Glu(OMe)-Thr-Asp(OMe)-fluorometilcetona); FAM-LEHD-FMK (benciloxicarbonil Leu-Glu-Thr-Asp-fluorometilcetona); FAM-LETD-FMK (benciloxicarbonil Leu-Glu-Thr-Asp-fluorometilcetona); Q-VD-OPH (quinolina-Val-Asp-CH₂-O-Ph); XIAP; cIAP-1; cIAP-2; ML-IAP; ILP-2; NAIP; survivina; Brice; IAPL-3; fortilina; leupeptina; PD-150606 (ácido 3-(4-yodofenil)-2-mercapto-(Z)-2-propenoico); MDL-28170 (Z-Val-Phe-CHO); calpeptina; acetil-calpastatina; MG 132 (N-[(fenilmetoxi)carbonil]-L-leucil-N-[(IS)-I-formil-3-metilbutil]-L-leucinamida); MYODUR; BN 82270 (Ipsen); BN 2204 (Ipsen); AHLI-11 (Quark Pharmaceuticals), una proteína mdm2, pifitrina-a (l-(4-metilfenil)-2-(4,5,6,7-tetrahidro-2-imino-3(2H)-benzotiazolil)etanona); trans-estilbeno; cis-estilbeno; resveratrol; piceatanol; rapontina; desoxirrapontina; buteína; chalcona; isoliquiritigén; buteína; 4,2',4'-trihidroxichalcona; 3,4,2',4',6'-pentahidroxichalcona; flavona; morina; fisetina; luteolina; quercetina; kaempferol; apigenina; gossipetina; miricetina; 6-hidroxipapigenina; 5-hidroxiavonina; 5,7,3',4',5'-pentahidroxiavonina; 3,7,3',4',5'-pentahidroxiavonina; 3,6,3',4'-tetrahidroxiflavona; 7,3',4',5'-tetrahidroxiflavona; 3,6,2',4'-tetrahidroxiflavona; 7,4'-dihidroxiavonina; 7,8,3',4'-tetrahidroxiflavona; 3,6,2',3'-tetrahidroxiflavona; 4'-hidroxiflavona; 5-hidroxiavonina; 5,4'-dihidroxiavonina; 5,7-dihidroxiavonina; daidzeína; genisteína; naringenina; flavanona; 3,5,7,3',4'-pentahidroxiavonina; cloruro de pelargonidina; cloruro de cianidina; cloruro de delfinidina; (-)-epicatequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4'^); (-)-catequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4'); (-)-galocatequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4',5) (+)-catequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4'^); (+)-epicatequina (sitios hidroxilo: 3,5,7,3',4'); hinokitiol (b-tujaplicina; 2-hidroxi-4-isopropil-2,4,6-cicloheptatrien-1-ona); L-(+)-ergotoneína (sal interna de (S)-a-carboxi-2,3-dihidro-N,N,N-trimetil-2-tioxo-1H-inidazole-4-etanamio); éster fenílico del ácido cafeico; MCI-186 (3-Metil-l-fenil-2-pirazolin-5-ona); HBED (ácido N,N'-di-(2-hidroxibencil)etilendiamina-N,N'-diacético *H₂O); ambroxol (trans-4-(2-amino-3,5-dibromobencilamino)ciclohexano-HCl; y U-83836E ((-)-2-((4-(2,6-di-l-pirrolidinil-4-pirimidinil)-1-piperzainil)metil)-3,4-dihidro-2,5,7,8-tetrametil-2H-1-benzopirano-6-ol)*2HCl); β -1-5-metil-nicotinamida-2'-desoxirribosa; /3-D-1'-5-metil-nicotinamida-2'-desoxirribofuranósido; /3-1'-4,5-dimetil-nicotinamida-2'-desoxirribosa; /3-D-1'-4,5-dimetil-nicotinamida-2'-desoxirribofuranósido; 1-naftilo PPI (1-(1,1-dimetiletil)-3-(l-naftalenil)-lH-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina); lavendustina A (ácido 5-[(2,5-dihidroxifenil)metil][(2-hidroxifenil)metil]amino)-2-hidroxibenzoico); MNS (3,4-metilenodioxib-nitroestireno); PPI (l-(l,1-dimetiletil)-l-(4-metilfenil)-lH-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina); PP2 (3-(4-clorofenil)-l-(l,1-dimetiletil)-lH-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina); KX1-004 (Kinex); KX1-005 (Kinex); KX1-136 (Kinex); KX1-174 (Kinex); KX1-141 (Kinex); KX2-328 (Kinex); KX1-306 (Kinex); KX1-329 (Kinex); KX2-391 (Kinex); KX2-377 (Kinex); ZD4190 (Astra Zeneca; N-(4-bromo-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-(2-(1H-l,2,3-triazol-l-il)etoxi)quinazolin-4-amina); AP22408 (Ariad Pharmaceuticals); AP23236 (Ariad Pharmaceuticals); AP23451 (Ariad Pharmaceuticals); AP23464 (Ariad Pharmaceuticals); AZD0530 (Astra Zeneca); AZM475271 (M475271; Astra Zeneca); dasatinib (N-(2-cloro-6-metilfenil)-2-(6-(4-(2-hidroxietil)-piperazin-l-il)-2-metilpirimidin-4-ilamino)tiazol-5-carboxamida); GN963 (sulfato de trans-4-(6,7-dimetoxiquinoxalin-2-ilamino)ciclohexanol); bosutinib (4-((2,4-dicloro-5-metoxifenil)amino)-6-metoxi-7-(3-(4-metil-l-piperazinil)propoxi)-3-quinolinacarbonitrilo); o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el fármaco es un agente que reduce impulsos neuronales o nerviosos no deseados. En algunas realizaciones, el fármaco reduce uno o más síntomas de discinesia o sincinesia. En algunas realizaciones, el fármaco es carbamazepina, oxcarbazepina, feniteína, ácido valproico, valproato de sodio, cinnarizina, flunarizina, o nimodipina, o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el fármaco es un agente que promueve la regeneración de tejido neuronal o nervioso. En algunas realizaciones, el fármaco es un factor de crecimiento. En algunas realizaciones, el fármaco se selecciona de factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF); neurotrofina-3; neurotrofina-4; receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); factor de crecimiento similar a insulina (IGF); o una combinación de los mismos.

XIII. Métodos de ablación nerviosa inducida por luz

La presente divulgación proporciona una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso en métodos para administrar un agente fotosensibilizante a una neurona o nervio humanos que comprende: poner en contacto la neurona o nervio humanos con una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprende (a) un péptido que se une específicamente a la neurona o al nervio, o a un componente de cualquiera de ellos, y (b) un agente fotosensibilizante. En algunas realizaciones, el método comprende además exponer la neurona o nervio humanos a una fuente de luz que activa el agente fotosensibilizante, en donde el agente fotosensibilizante activado induce la ablación o destrucción de la neurona o nervio humanos. Tras la exposición a una longitud de onda de luz específica, un agente fotosensibilizante reacciona con oxígeno molecular para producir oxígeno singlete, que es citotóxico. En determinadas realizaciones, un agente fotosensibilizante es una porfirina, clorina, o colorante. Los ejemplos de agentes fotosensibilizantes incluyen porfirina, protoporfina IX, puritina, verteporfina, HPPH, temoporfina, azul de metileno, fotofrina, protofina, hematoporfirina, talaporfina, monoácido derivado de benzoporfina, ácido 5-aminoleuvulínico, texapirina de luteo, metalofteralocianina, metalo-naftocianinasulfobenzo-

porfirazinas, metalo-naftalocianinas, tetrasulfoftalocianina de zinc, bacterioclorinas, metaloclorinas, derivado de cloro, tetra(*m*-hidroxifenil)clorina (*m*THPC), feoforbida, dibromofluoresceína (DBF), IR700DX, naftalocianina, y derivados de porfirina. En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica que comprende SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), o 5FAM-QVPWEEPPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, el péptido comprende: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), o DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, el péptido comprende: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), o QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, el péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, el péptido comprende WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, el péptido comprende DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, el péptido comprende QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, el péptido comprende QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, el péptido comprende PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, el péptido comprende EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, el péptido comprende PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, el péptido comprende SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, el péptido comprende SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, el péptido comprende SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, el péptido comprende SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, el péptido comprende 5FAM-QVPWEEPPYYVVKKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, el péptido comprende Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, el péptido comprende DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es NTQTLAKAPEHT (SEQ ID NO: 19).

Pueden usarse moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante tal como se divulga en el presente documento en métodos de destrucción de nervios localizada en un sujeto. Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para tratar dolor crónico (por ejemplo, dolor de espalda, de cuello, o articular) en un sujeto. Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para tratar cáncer de próstata en un sujeto. La inervación autonómica puede

contribuir a crecimiento y metástasis de cáncer de próstata por ablación inducida por luz de nervios autonómicos locales. Por tanto, los nervios autonómicos locales pueden ser una diana viable para la terapia de cáncer de próstata. Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para tratar hipertensión renovascular en un sujeto mediante ablación inducida por luz de nervios simpáticos en los vasos renales. Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para tratar sudoración excesiva. Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para tratar arritmias cardíacas. Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que comprenden un agente fotosensibilizante pueden usarse para tratar espasmos musculares patológicos (por ejemplo, síndrome de Meige, espasmo hemifacial, tortícolis).

XIV. Composiciones farmacéuticas

Se divulgan en el presente documento, en determinadas realizaciones, composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos divulgada en el presente documento. Se formulan composiciones farmacéuticas en el presente documento usando uno o más portadores fisiológicamente aceptables incluyendo excipientes y agentes auxiliares que facilitan el procesamiento de los agentes activos para dar preparaciones que se usan farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Se encuentra un resumen de composiciones farmacéuticas, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª ed. (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania 1975; Liberman, H. A. y Lachman, L., eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N. Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms y Drug Delivery Sistemas, 7ª ed. (Lippincott Williams & Wilkins, 1999). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos comprende una secuencia peptídica seleccionada del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYVVGCC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22), EEPYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), y DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), SGQVPWEEPYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), y QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido QVPWEEPYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-QVPWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PWEEPYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PWEEPYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido

- EEPYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-EEPYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEPY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido 5FAM-QVPWEEPYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende el péptido DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es Ac-SHSNTQTLAKAPEHTGC (Ac-NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 17). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es SHSNTQTLAKAPEHTGC (NP41 con ligador GC; SEQ ID NO: 18). En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento comprende un péptido que no es NTQTLAKAPEHT (SEQ ID NO: 19).
- Una composición farmacéutica divulgada en el presente documento puede comprender además diluyente(s), excipiente(s) o portador(es) farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir otros agentes medicinales o farmacéuticos, portadores, adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de disolución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, las composiciones farmacéuticas también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas.
- Las moléculas de direccionamiento a neuronas o nervios humanos divulgadas en el presente documento pueden administrarse a un sujeto a través de un vehículo o portador de administración de fármacos. Un vehículo de administración puede estar hecho de materiales naturales o sintéticos o ambos. Un vehículo de administración puede ser una nanopartícula, micropartícula, micela polimérica, nanocápsula, dendrímero, PEG grande, nanogel, liposoma, fullereno, portador lipídico nanoestructurado, nanocubierta, punto cuántico, nanoportadores basados en proteínas (por ejemplo, nanoportadores basados en albúmina, elastina, gliadina, legúmina, zeína, proteína de soja, proteína de leche, en suero de leche), nanoportador orgánico (por ejemplo, gelatina, dextrano, goma guar, quitosano, colágeno), portador basado en polisacáridos (por ejemplo, dextrano, quitosano, pectina), emulsión lipídica o una combinación de los mismos.
- Una composición farmacéutica divulgada en el presente documento puede administrarse a un sujeto mediante cualquier vía de administración adecuada, administración parenteral (intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intravascular, intratecal, intravítrea, por infusión o local).
- Las formulaciones adecuadas para inyección intramuscular, subcutánea o intravenosa incluyen disoluciones acuosas o no acuosas, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles fisiológicamente aceptables, y polvos estériles para reconstitución en disoluciones o dispersiones inyectables estériles. Ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, Cremophor y similares), mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se mantiene, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos. Las formulaciones adecuadas para inyección subcutánea también contienen aditivos opcionales tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes, y dispersantes.
- Para inyecciones intravenosas, un agente activo se formula opcionalmente en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como disolución de Hank, disolución de Ringer o tampón salino fisiológico.
- Las inyecciones parenterales implican opcionalmente inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se presentan opcionalmente en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. La composición farmacéutica descrita en el presente documento puede estar en una forma adecuada para inyección parenteral como suspensiones, disoluciones o emulsiones estériles en vehículos oleosos o acuosos, y contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de un agente activo en forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones se preparan opcionalmente como suspensiones de inyección aceitosas apropiadas.

La composición farmacéutica descrita en el presente documento puede estar en formas de dosificación unitaria adecuadas para la administración única de dosificaciones precisas. En forma de dosificación unitaria, la formulación se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de un agente activo divulgado en el presente documento. La dosificación unitaria puede estar en forma de un envase que contiene cantidades discretas de la formulación. Los ejemplos son comprimidos o cápsulas envasados, y polvos en viales o ampollas. Las composiciones en suspensión acuosa pueden envasarse en recipientes de dosis única que no pueden volverse a cerrar. Alternativamente, pueden usarse recipientes de múltiples dosis que pueden volverse a cerrar, en cuyo caso es típico incluir un conservante en la composición. A modo de ejemplo solamente, las formulaciones para inyección parenteral se presentan en forma de dosificación unitaria, que incluye ampollas, o en recipientes multidosis, con un conservante añadido.

En algunas realizaciones, la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos se administra mediante inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos.

Ejemplos

Ejemplo 1: péptidos para dirigirse a nervios humanos y su uso en cirugía guiada por imágenes, diagnóstico y administración terapéutica

SUMARIO

Se usaron selecciones de presentación en fagos para identificar péptidos que se unen a nervios humanos y que, por tanto, podrían ser útiles para el marcaje *in vivo* sistémico de nervios durante cirugía asistida por fluorescencia. Específicamente, las bibliotecas de fagos m13 que expresan 16 secuencias de aminoácidos aleatorias en el extremo N-terminal de gIII (Creative Biolabs) se procesaron a través de selecciones para la unión a nervios humanos recién extirpados o congelados. En paralelo, se seleccionó una biblioteca de NP41 X12 + 4 recién diseñada. Cada biblioteca se procesó a través de hasta 6 ciclos de unión y lavado. Los fagos seleccionados se seleccionaron adicionalmente para someter a contraselección los músculos de baja afinidad y el tejido graso mediante la preabsorción de la biblioteca, y cualquier aglutinante de alta afinidad, con tejido antes de la selección positiva para la unión a nervios. La secuenciación de fagos individuales produjo estas secuencias únicas que estaban altamente enriquecidas y, por tanto, una mayor afinidad en relación con el conjunto de clones: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWEA (HNP403; SEQ ID NO: 3) de la biblioteca X16 y DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP404; SEQ ID NO: 16) de la biblioteca NP41-X12 +4. Las secuencias de aminoácidos derivadas de secuencias de fagos seleccionados se sintetizaron químicamente como péptidos mediante síntesis en fase sólida y se marcaron con fluoresceína (FAM) o Cy5 en el extremo C-terminal mediante un ligador GGC para la unión *in vitro* a nervios humanos y el marcaje *in vivo* de nervios de roedores. Se mostró un marcaje fuerte de secciones recientes de nervios humanos y nervios ciáticos de ratón marcados *in vivo*. El marcaje útil se produce entre 2-6 horas después de la administración intravenosa y podría visualizarse usando un microscopio de disección de fluorescencia personalizado, un instrumento de obtención de imágenes Maestro de CRI, o un Zeiss Lumar.

La conservación de nervios periféricos es uno de los objetivos más importantes de cualquier procedimiento quirúrgico, porque la transección accidental de nervios periféricos durante procedimientos quirúrgicos conduce a una morbilidad significativa para los pacientes. Además, los nervios crecen de nuevo de forma más lenta e incompleta después de la transección que casi cualquier otro tejido. Normalmente, los nervios periféricos se identifican por su relación relativamente constante con estructuras cercanas, así como por su apariencia típica de ser estructuras alargadas blanquecinas que se escalecen. Sin embargo, en muchos casos, la identificación de nervios periféricos usando estos criterios puede ser difícil: por ejemplo, en casos de implicación tumoral, en casos de inflamación/infección, en un campo quirúrgico operado previamente, o cuando el nervio está encerrado en el hueso.

Los métodos actuales para el marcaje nervioso dependen principalmente del trazado retrógrado o anterógrado de los tractos axonales identificados individualmente mediante el uso de colorantes fluorescentes. Los colorantes fluorescentes se aplican a la diana de inervación y se desplazan de una manera retrógrada para marcar las fibras nerviosas inervantes, o se aplican directamente a los nervios identificados y marcan las fibras nerviosas tanto anterógrada como retrógradamente. Esta técnica tiene el inconveniente de poder marcar sólo un tracto de fibras nerviosas a la vez, dependiendo de dónde se haya inyectado el colorante. Un segundo inconveniente es la acumulación limitada de colorantes fluorescentes a lo largo de los tractos axonales, porque los trazadores axonales retrógrados se acumulan normalmente en el cuerpo de las células neurales y el marcaje axonal con estos colorantes fluorescentes es limitado. Un tercer inconveniente de esta técnica es que el transporte retrógrado es relativamente lento (del orden de milímetros al día) y, por tanto, tarda mucho tiempo en marcar los nervios humanos, que son a menudo más largos que un metro (como en el caso del nervio ciático y sus arborizaciones). Además, la aplicación de colorantes fluorescentes a dianas de inervación, tales como inyecciones intramusculares directas para marcar nervios motores, es normalmente molesta, permaneciendo una cantidad variable del colorante trazador en el sitio de inyección. Como la disección de los nervios depende de la visualización precisa de las estructuras adyacentes antes de encontrarlas, no sería deseable un sitio quirúrgico que esté contaminado con colorantes fluorescentes.

Finalmente, la inyección directa del colorante fluorescente en sí puede dañar los órganos o nervios diana de interés, o bien por daño mecánico o bien por la concentración local muy alta de colorante y vehículo en el sitio de inyección.

El método de inyección sistémica de péptidos marcados con fluorescencia para marcar nervios descrito en este documento aborda todas las desventajas de los trazadores fluorescentes descritos anteriormente. En primer lugar, a medida que los péptidos se administran por vía sistémica, todos los nervios periféricos en el cuerpo tienen el potencial de marcarse. Esto contrasta con el marcaje de un solo nervio a la vez como con los métodos actuales. En segundo lugar, como los péptidos descritos en el presente documento se seleccionaron por su capacidad para unirse a nervios, las fibras nerviosas se visualizan claramente en comparación con estructuras no neurales adyacentes. Esto contrasta con la acumulación preferencial a los cuerpos celulares neurales en lugar de los procesos axonales con la mayoría de los colorantes fluorescentes actuales. En tercer lugar, la unión de los péptidos descritos en el presente documento a los nervios se produce muy rápidamente y la visualización de los nervios periféricos usando esta técnica puede realizarse en horas. Esto contrasta con la velocidad relativamente lenta de marcaje con trazadores anterógrados o retrógrados. Finalmente, dado que los péptidos se aplican sistémicamente mediante inyección intravenosa, el daño a los nervios en el sitio de inyección no es un problema.

Las secuencias peptídicas dirigidas a nervios que se derivaron usando nervios periféricos de ratón para investigación de laboratorio se han descrito previamente (patente estadounidense n.º 8.685.372, 1 de abril de 2014). Sin embargo, debido a que la aplicación clínica final prevista del marcaje nervioso es en pacientes humanos, se buscó la identificación de secuencias peptídicas únicas que se unen a nervios humanos. Las secuencias peptídicas descritas en esta solicitud se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos. Estas secuencias peptídicas se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos, después de la inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos, y como tales estos péptidos serán mucho más propensos a unirse a nervios humanos en comparación con secuencias que se seleccionaron contra nervios de roedores.

Los métodos actuales para marcar nervios implican la aplicación de colorantes trazadores fluorescentes (Fast Blue, rodamina-isotiocianato, Fluoro-Ruby, Fluoro-Emerald), colorantes de carbocianina (DiI, DiAsp, DiO, DiA), Fluoro-Gold, perlas de látex marcadas con fluorescencia, lectinas vegetales marcadas con fluorescencia y toxinas bacterianas (aglutinina de germen de trigo, aglutinina de cacahuete, concanavalina A, *Phaseolus vulgaris*-leucoaglutinina (PHA-L), aglutinina de soja, aglutinina de *Ulex europaeus*, aglutinina (I y II) de *Ricinus communis*, fragmento C de toxina tetánica, toxina del cólera B y conjugados de dextrano marcados con fluorescencia.

MÉTODOS:

Detalles experimentales:

Se usaron bibliotecas de fagos m13 que expresan secuencias aleatorias de 16 aminoácidos en el extremo N-terminal de gIII (Creative Biolabs) o una biblioteca derivada internamente que expresa el derivado de NP41 para identificar péptidos que se unen al tejido nervioso humano.

Selección de péptidos

Se obtuvieron nervios periféricos humanos de pacientes sometidos a procedimientos de resección de nervios y se homogeneizaron. La mezcla de biblioteca de fagos se incubó con homogeneizado de nervio u homogeneizados de nervio que se habían unido a placas de 6 pocillos de alta unión a proteínas. Después de la incubación, la mezcla se centrifugó y el sedimento se lavó con PBS, o la placa se lavó con PBS. El sedimento se volvió a homogeneizar y se sembró en placas para su titulación y reamplificación o se liberó de la placa con tampón de pH bajo. Los fagos que se unieron en cada ronda se secuenciaron y se observaron repeticiones. No se identificaron repeticiones hasta la ronda 4 de selección.

Se identificaron SGQVPWEEPYVVKSS (HNP401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP403; SEQ ID NO: 3) de la biblioteca X16 y DTHAHAKPRVPAFKSV (SEQ ID NO: 16) después de la ronda 5, tabla 1.

Tabla 1: Péptidos identificados

Nombre	Secuencias de repetición	Número de repeticiones	SEQ ID NO:
HNP 401	SGQVPWEEPYVVKSS	>10	1
HNP 402	WEYHYVDLNWTSQHPQ	>10	2
HNP 403	DLPDIWDFNWETA	7	3
HNP 404	DTHAHAKPRVPAFKSV	3	16

Pruebas *in vivo* de péptidos

Se inyectaron por vía intravenosa en ratones o bien 150 o bien 450 nmoles de péptidos sintéticos marcados con fluoresceína. Después de un periodo de espera de 2 horas para el lavado de la unión inespecífica, los ratones se anestesiaron y se hicieron incisiones en la piel sobre la superficie dorsal de las patas traseras para exponer el nervio ciático. Se obtuvieron imágenes de campo claro y fluorescentes con un microscopio de disección usando el software Metamorph (figura 1). La cuantificación de la fluorescencia de los nervios y del tejido no nervioso adyacente se realizó con imageJ (figura 2). Los péptidos también se aplicaron por vía tópica a secciones de nervios humanas. Los nervios se congelaron en fresco en OTC antes de seccionarlos. Los péptidos se aplicaron por vía tópica a una concentración de 300 μ M, mostrándose las imágenes para HNP401, HNP402, HNP404 y los péptidos de unión a nervios previamente notificados NP41 (figura 3). También se muestran imágenes para las variantes HNP301 (SEFPRSWDMETN) y NP124. También se sometió a prueba NP713 y no se ha informado en una publicación. NP713 es un derivado de NP41 con la secuencia NTHPHTTSRVPSQIAR que se enriqueció después de 7 rondas de selección contra tejido de ratón, y también se encontró después de 4 rondas de selección contra tejido humano. La unión del fago NP713 en comparación con el fago de tipo natural mostró una razón nervio:músculo 4,8 veces mayor. FAM-NP713 mostró un contraste nervio:músculo similar a NP41 (datos no mostrados aquí). También se muestran todos los controles de D-aminoácidos para NP-41 y NP713 y carboxifluoresceína no conjugada con péptido. El HNP401 muestra el contraste específico del nervio más alto con la mayoría del marcaje que se produce en el perineurio. Para demostrar adicionalmente la unión selectiva a HNP401, HNP401, NP41 y HNP404 se sometieron a prueba a una concentración más baja, 100 μ M (figura 4). Después se sometió a prueba el HNP401 para el marcaje del nervio cavernoso de próstata de rata y de rata *in vivo*. La figura 5 muestra el marcaje *in vivo* del nervio ciático de rata. Las figuras 6 y 7 muestran el marcaje *in vivo* del nervio cavernoso de próstata de rata en comparación con la visualización de luz blanca.

Las secuencias peptídicas dirigidas a nervios que se identificaron por su capacidad para unirse a nervios de ratón para investigación de laboratorio se describieron previamente. Debido a que las secuencias peptídicas descritas en este documento se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos, después de la inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos, estos péptidos serán mucho más propensos a unirse a nervios humanos en comparación con secuencias que se seleccionaron contra nervios de roedores.

Los péptidos de unión a nervios humanos marcados con fluorescencia se aplican por vía sistémica mediante inyección intravenosa. Después de un corto periodo de espera para el lavado de la unión inespecífica, los nervios periféricos pueden visualizarse dentro de un campo quirúrgico con filtros de excitación y emisión apropiados.

Los péptidos de unión a nervios humanos también pueden conjugarse con factores que pueden tener propiedades neurotróficas o protectoras de los nervios. Después de la aplicación sistémica mediante inyección intravenosa, los conjugados péptido-factor trófico/neuroprotector podrían facilitar la reparación/regeneración de nervios dañados tanto en la periferia como en la médula espinal.

Los péptidos de unión a nervios humanos conjugados con factores neuroprotectores/neurotróficos también pueden conjugarse con péptidos que albergan lesiones para mejorar adicionalmente la administración localizada de estos factores a nervios lesionados, posiblemente facilitando la resistencia a lesiones/reparaciones/regeneración.

Aplicaciones y usos:

Los péptidos de unión a nervios marcados con fluorescencia pueden usarse para ayudar a los cirujanos a visualizar los nervios durante procedimientos quirúrgicos antes de encontrarlos físicamente y, por tanto, dañarlos potencialmente. Esto es particularmente importante durante la cirugía en la glándula prostática, porque los nervios cavernosos que controlan las erecciones masculinas discurren muy cerca de la próstata, pero son prácticamente invisibles normalmente.

Los conjugados péptido de unión a nervios-factor neurotrófico/neuroprotector pueden usarse para facilitar la reparación/regeneración de nervios dañados.

Los péptidos de unión a nervios podrían conjugarse con colorantes fotosensibilizantes para uso potencial con muerte de nervios inducida por luz como tratamiento para dolor localizado.

Bibliografía:

1. Whitney M, Crisp J, Nguyen L, Friedman B, Gross L, Steinbach P, Tsien R, Nguyen Q. Fluorescent peptides highlight peripheral nerves during surgery in mice. *Nature Biotechnology*. 2011;29:352-356
2. Wu AP, Whitney MA, Crisp JL, Friedman B, Tsien RY, Nguyen QT. Improved facial nerve identification with novel fluorescently labeled probe. *The Laryngoscope*. 2011;121:805-810
3. Kobbert C., Apps R., Bechmann I., Laciego, J.L., Mey, J., Thanos, S. Currents concepts in neuroanatomical tracing. *Progress in Neurobiology* 62 (2000) 327-351.

4. Richmond, F.J.R., Gladdy R., Creasy, J.L., Ktmura S., Smits, E., Thomson D.B. Efficacy of seven retrograde tracers, compared in multiple-labelling studies of feline motoneurons. *Journal of Neuroscience Methods* 53 (1994) 35-46.2

5. Marangos, N., Illing R., Kruger J., Laszig R. In vivo visualization of the cochlear nerve and nuclei with fluorescent axonal tracers. *Hearing Research* 162 (2001) 48-52.

6. O'Malley, M., Wittkopf, J., Cutler J., Labadie, R., Hackett, T., Haynes, D. Fluorescent retrograde axonal tracing of the facial nerve. *The Laryngoscope* 116 (2006) 1792-1797.

Ejemplo 2: péptidos optimizados para dirigirse a nervios humanos y su uso en cirugía guiada por imágenes, diagnóstico y administración terapéutica

SUMARIO

Se usaron selecciones de presentación en fagos para identificar péptidos que se unen a nervios humanos y que, por tanto, podrían ser útiles para el marcaje *in vivo* sistémico de nervios durante cirugía asistida por fluorescencia. Específicamente, las bibliotecas de fagos m13 que expresan 16 secuencias de aminoácidos aleatorias en el extremo N-terminal de gIII (Creative Biolabs) se procesaron a través de selecciones para la unión a nervios humanos recién extirpados o congelados. La biblioteca se procesó a través de hasta 6 ciclos de unión y lavado. Los fagos seleccionados se seleccionaron adicionalmente para someter a contraselección los músculos de baja afinidad y el tejido graso mediante la preabsorción de la biblioteca, y cualquier aglutinante de alta afinidad, con tejido antes de la selección positiva para la unión a nervios. La secuenciación de fagos individuales produjo estas secuencias únicas que estaban altamente enriquecidas y, por tanto, una mayor afinidad en relación con el conjunto de clones: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP403; SEQ ID NO: 3). Las secuencias de aminoácidos derivadas de secuencias de fagos seleccionados se sintetizaron químicamente como péptidos mediante síntesis en fase sólida y se marcaron con fluoresceína o Cy5 para la unión *in vitro* a nervios humanos y el marcaje *in vivo* de nervios de roedores. Se mostró un marcaje fuerte de secciones recientes de nervios periféricos humanos (motores, sensoriales, autonómicos) y nervios ciáticos de ratón y rata marcados *in vivo*. El marcaje útil se produce entre 2-6 horas después de la administración intravenosa y podría visualizarse usando un microscopio de disección de fluorescencia personalizado, un instrumento de obtención de imágenes Maestro de CRI, o un microscopio de disección Zeiss Lumar.

RESULTADOS

La identificación y conservación de los nervios es esencial en cirugía de la cabeza y el cuello.

La identificación de nervios periféricos es crítica para su conservación durante la cirugía, porque la transección o lesión accidental puede conducir a una morbilidad significativa del paciente, incluyendo dolor crónico, entumecimiento o parálisis permanente¹. La identificación de nervios es especialmente importante durante la cirugía de la cabeza y el cuello. Por ejemplo, se ha informado que la disfunción del nervio facial es tan alta como el 40 % durante el periodo postoperatorio agudo y el 30 % 1 mes después de la parotidectomía^{2,3}. De manera similar, se ha informado que la disfunción del nervio facial es tan alta como el 30 % a 1 año después de la cirugía vestibular de schwannoma⁴. La inmovilidad temporal y permanente de las cuerdas vocales son complicaciones quirúrgicas importantes de la cirugía tiroidea, de las aproximaciones cervicales anteriores a la columna vertebral, de la esofagectomía y de la endarterectomía carotídea⁵. Aunque el curso del nervio facial sigue normalmente puntos de referencia anatómicos definidos, se ha documentado una variabilidad extensa de paciente a paciente para cada rama del nervio facial extratemporal, incluyendo la variabilidad en el número total de divisiones, el origen de divisiones individuales y las conexiones entre divisiones⁶⁻⁹. Incluso dentro del mismo paciente, el nervio facial izquierdo y derecho puede mostrar diferencias en el curso y divisiones¹⁰. Se ha documentado variabilidad similar para el nervio laríngeo recurrente^{11,12}. En casos de invasión tumoral, inflamación, traumatismo o cirugía repetida, la identificación de nervios puede ser incluso más desafiante. Finalmente, la identificación de nervios degenerados, que son críticamente importantes durante la cirugía reconstructiva, es incluso más difícil que su contraparte funcional ya que se vuelven cada vez más pequeños con el tiempo. Por consiguiente, cualquier medio para mejorar la determinación visual entre el tejido nervioso y no nervioso representaría un avance significativo en la técnica quirúrgica.

La identificación y conservación de nervios es esencial durante otras cirugías, incluyendo la cirugía de cáncer de próstata.

El cáncer de próstata es el tumor maligno de órganos sólidos más común en hombres de EE. UU. Para hombres con cirugía localizada de cáncer de próstata da como resultado un excelente control del cáncer. Con demasiada frecuencia este tratamiento contra el cáncer se realiza a expensas de la función eréctil, el control urinario y la calidad de vida global. La conservación de los haces neurovasculares autónomos durante prostatectomía radical es un

aspecto importante de la operación. Durante casi 20 años se ha reconocido la importancia de conservar los nervios autónomos que discurren a lo largo de la cara posterolateral de la próstata con el fin de conservar la función eréctil. Sin embargo, las propias fibras nerviosas autónomas rara vez se visualizan. En su lugar, los cirujanos conservan los complejos de vasos sanguíneos, o haces neurovasculares, que se ha demostrado que tienen la densidad más alta de nervios autónomos. La posición exacta y la distribución de estos nervios autónomos son variables¹³⁻¹⁸ como incluso en las manos más experimentadas, son comunes la disfunción eréctil y la incontinencia urinaria¹⁴. Los resultados de la función sexual mejorada están asociados con el aumento de la experiencia del cirujano y la evitación de lesiones por aplastamiento o tracción en estos nervios. La variación anatómica significativa y las diferencias en la experiencia y el volumen del cirujano crean una oportunidad para mejorar la calidad quirúrgica mientras se minimizan los resultados adversos. En casos de invasión tumoral, inflamación, traumatismo o cirugía repetida, la identificación y conservación de nervios representaría un reto adicional. Finalmente, el uso creciente de cirugía robotizada, con su inherente falta de retroalimentación háptica¹⁹, además aumenta la dependencia del cirujano de la información visual. Por consiguiente, cualquier medio para mejorar la determinación visual entre el tejido nervioso y no nervioso representaría un avance significativo.

Los nervios pequeños son difíciles de identificar durante la cirugía.

Los nervios delgados o enterrados son particularmente difíciles de distinguir y, por tanto, son los más propensos a dañarse durante los procedimientos quirúrgicos. La identificación de los nervios motores antes de la exposición directa depende actualmente de la monitorización electromiográfica (EMG)²⁰⁻²² en la que se inserta un electrodo de estimulación y se controlan las contracciones musculares distales. La EMG no es una técnica de obtención de imágenes, por lo que incluso si se ha identificado un nervio en una ubicación no hay orientación visual en cuanto a su distancia del sitio de estimulación y en qué dirección se encuentra el nervio. Además, la EMG sólo identifica rutas motoras, no fibras sensoriales tales como las dos primeras divisiones del nervio trigémino o el nervio cocleovestibular ni tractos simpáticos tales como el haz neurovascular que rodea la glándula prostática²³⁻²⁵ en la que la lesión nerviosa después de prostatectomía radical conduce a incontinencia urinaria y disfunción eréctil significativas²⁶. La inserción del electrodo puede dañar por sí misma un nervio. Finalmente, la EMG falla si la transmisión axonal o neuromuscular se bloquea temporalmente distal al sitio de registro por compresión nerviosa, traumatismo, invasión tumoral, anestésicos locales o bloqueadores neuromusculares. Existen algunas tecnologías potenciales para visualización de nervios *in vivo* sin moléculas de sonda exógenas, tales como tomografía de coherencia óptica²⁷ o microscopía láser confocal²⁸. Sin embargo, los nervios tienen muy poco contraste intrínseco para distinguirlos de otros tejidos, y estas técnicas no producen fácilmente imágenes en vivo en tiempo real sobre el campo de visión necesario para guiar la cirugía. Los nervios degenerados, importantes para identificar durante la cirugía reconstructiva después de la resección del cáncer, amputaciones traumáticas o terapéuticas, tampoco tendrían mielina y, por tanto, no se beneficiarían de estos agentes.

Estrategias competitivas para mejorar la visualización nerviosa durante la cirugía.

Por estas razones, existe mucho interés en el desarrollo de reactivos de marcaje para mejorar la visualización nerviosa durante la cirugía. Se ha centrado en el marcaje de nervios que depende del trazado retrógrado o anterógrado de tractos axonales individuales mediante el uso de colorantes fluorescentes²⁹⁻³² o la subunidad B de la toxina del cólera (CTb488)³³. Los colorantes fluorescentes se aplican a la diana de inervación y se desplazan de una manera retrógrada para marcar las fibras nerviosas inervantes, o se aplican directamente a los nervios identificados y marcan las fibras nerviosas tanto anterógrada como retrógradamente. Las inyecciones locales tienen el inconveniente de poder marcar sólo un tracto de fibras nerviosas a la vez. El transporte anterógrado y retrógrado es relativamente lento y puede llevar días desplazarse unos pocos milímetros, mientras deja la mayor parte del trazador en el sitio de inyección. Como la disección de los nervios depende de la visualización precisa de las estructuras adyacentes, no sería deseable un sitio quirúrgico que esté muy contaminado con colorantes fluorescentes en exceso. Finalmente, la inyección directa del colorante fluorescente puede dañar los órganos o nervios diana de interés, o bien por daño mecánico o bien por la concentración local muy alta de colorante y vehículo en el sitio de inyección.

Más recientemente, existe interés en usar colorantes vasculares tales como verde de indocianina (ICG) para marcar el suministro vascular de nervios (es decir, vasa nervorum)^{34, 35}. Una limitación de esta tecnología es que los nervios pequeños (tales como los nervios cavernosos importantes para la cirugía de próstata) tendrán proporcionalmente menos vasa nervorum, limitando el contraste y la intensidad en comparación con el tejido adyacente.

También se ha centrado en agentes de direccionamiento a mielina, incluyendo derivados de diestirilbenceno (DSB)³⁶, derivados de cumarina y anticuerpos antigangliósido³⁷. Los DSB y los derivados de cumarina son moléculas pequeñas con fluorescencia intrínseca mientras que los anticuerpos antigangliósido se conjugan con colorantes fluorescentes para la obtención de imágenes³⁶⁻⁴³. Aunque estas moléculas son potencialmente prometedoras para la obtención de imágenes de nervios periféricos, los nervios no mielinizados tales como los nervios cavernosos (que son autónomos y mínimamente mielinizados) probablemente tendrán poca unión, limitando de este modo su utilidad en estas cirugías importantes. Los nervios degenerados también tendrían mielina limitada presente y, por tanto, no estarían marcados con estos agentes.

El método de inyección sistémica de péptidos marcados con fluorescencia para marcar nervios descrito en este documento aborda todas las desventajas de otras técnicas de direccionamiento a nervios descritas anteriormente. En primer lugar, a medida que los péptidos se administran por vía sistémica, todos los nervios periféricos en el cuerpo tienen el potencial de marcarse. Esto contrasta con el marcaje de un solo nervio a la vez como con los métodos actuales. En segundo lugar, como los péptidos descritos en el presente documento se seleccionaron por su capacidad para unirse a nervios, las fibras nerviosas se visualizan claramente en comparación con estructuras no neurales adyacentes. Esto contrasta con la acumulación preferencial a los cuerpos celulares neurales en lugar de los procesos axonales con la mayoría de los colorantes fluorescentes actuales. En tercer lugar, la unión de los péptidos descritos en el presente documento a los nervios se produce muy rápidamente y la visualización de los nervios periféricos usando esta técnica puede realizarse en el plazo de horas. Esto contrasta con la velocidad relativamente lenta de marcaje con trazadores anterógrados o retrógrados. Finalmente, dado que los péptidos se aplican sistémicamente mediante inyección intravenosa, el daño a los nervios en el sitio de inyección no es un problema.

Las secuencias peptídicas dirigidas a nervios que se derivaron usando nervios periféricos de ratón para investigación de laboratorio se han descrito previamente (patente estadounidense 8.685.372, 1 de abril de 2014 Peptides and aptamers for targeting of neuron or nerves, los documentos US20120148499 y WO2010121023A2). Sin embargo, debido a que la aplicación clínica final prevista del marcaje nervioso es en pacientes humanos, se buscó la identificación de secuencias peptídicas únicas que se unen a nervios humanos. Las secuencias peptídicas descritas en esta solicitud se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos. Estas secuencias peptídicas se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos, después de la inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos, y como tal será mucho más probable que se unan a nervios humanos en comparación con secuencias que péptidos que se seleccionaron contra nervios de roedores.

Los métodos actuales para marcar nervios implican la aplicación de colorantes trazadores fluorescentes (Fast Blue, rodamina-isotiocianato, Fluoro-Ruby, Fluoro-Emerald), colorantes de carbocianina (DiI, DiAsp, DiO, DiA), Fluoro-Gold, perlas de látex marcadas con fluorescencia, lectinas vegetales marcadas con fluorescencia y toxinas bacterianas (aglutinina de germen de trigo, aglutinina de cacahuete, concanavalina A, *Phaseolus vulgaris*-leucoaglutinina (PHA-L), aglutinina de soja, aglutinina de *Ulex europaeus*, aglutinina (I y II) de *Ricinus communis*, fragmento C de toxina tetánica, toxina del cólera B y conjugados de dextrano marcados con fluorescencia.

Los colorantes fluorescentes se aplican o bien a la diana de inervación y se desplazan de una manera retrógrada para marcar las fibras nerviosas inervantes, o se aplican directamente a los nervios identificados y marcan las fibras nerviosas tanto anterógrada como retrógradamente. Tal como se mencionó anteriormente, las inyecciones locales tienen el inconveniente de poder marcar sólo un tracto de fibras nerviosas a la vez. El transporte anterógrado y retrógrado es relativamente lento y puede llevar días desplazarse unos pocos milímetros, mientras deja la mayor parte del trazador en el sitio de inyección. Como la disección de los nervios depende de la visualización precisa de las estructuras adyacentes, no sería deseable un sitio quirúrgico que esté muy contaminado con colorantes fluorescentes en exceso. Finalmente, la inyección directa del colorante fluorescente puede dañar los órganos o nervios diana de interés, o bien por daño mecánico o bien por la concentración local muy alta de colorante y vehículo en el sitio de inyección.

Más recientemente, existe interés en usar colorantes vasculares tales como verde de indocianina (ICG) para marcar el suministro vascular de nervios (es decir, vasa nervorum)^{34, 35}. Una limitación de esta tecnología es que los nervios pequeños (tales como los nervios cavernosos importantes para la cirugía de próstata) tendrán proporcionalmente menos vasa nervorum, limitando el contraste y la intensidad en comparación con el tejido adyacente.

También se ha centrado en agentes de direccionamiento a mielina, incluyendo derivados de diestirilbenceno (DSB)³⁶, derivados de cumarina y anticuerpos antigangliósido³⁷. Los DSB y los derivados de cumarina son moléculas pequeñas con fluorescencia intrínseca mientras que los anticuerpos antigangliósido se conjugan con colorantes fluorescentes para la obtención de imágenes³⁸⁻⁴³. Aunque estas moléculas son potencialmente prometedoras para la obtención de imágenes de nervios periféricos, los nervios no mielinizados tales como los nervios cavernosos (que son autónomos y mínimamente mielinizados) probablemente tendrán poca unión, limitando de este modo su utilidad en estas cirugías importantes. Los nervios degenerados también tendrían mielina limitada presente y, por tanto, no estarían marcados con estos agentes.

Las secuencias peptídicas dirigidas a nervios que se identificaron por su capacidad para unirse a nervios de ratón para investigación de laboratorio se describieron previamente. Debido a que las secuencias peptídicas descritas en este documento se identificaron por su capacidad para unirse a nervios humanos, después de la inyección intravenosa sistémica en pacientes humanos, estos péptidos serán mucho más propensos a unirse a nervios humanos en comparación con secuencias que se seleccionaron contra nervios de roedores.

Los péptidos de unión a nervios humanos marcados con fluorescencia se aplican sistémicamente mediante inyección intravenosa. Después de un corto periodo de espera para el lavado de la unión inespecífica, los nervios periféricos pueden visualizarse dentro de un campo quirúrgico con filtros de excitación y emisión apropiados.

Los péptidos de unión a nervios humanos también pueden conjugarse con factores que pueden tener propiedades neurotróficas o protectoras de los nervios. Después de la aplicación sistémica mediante inyección intravenosa, los conjugados péptido-factor trófico/neuroprotector podrían facilitar la reparación/regeneración de nervios dañados tanto en la periferia como en la médula espinal.

Los péptidos de unión a nervios humanos conjugados con factores neuroprotectores/neurotróficos también pueden conjugarse con péptidos dirigidos a lesiones para mejorar adicionalmente el suministro localizado de estos factores a nervios lesionados, posiblemente facilitando la resistencia a lesiones/reparaciones/regeneración.

MÉTODOS

Detalles experimentales:

Se usaron bibliotecas de fagos m13 que expresan secuencias aleatorias de 16 aminoácidos en el extremo N-terminal de gIII (Creative Biolabs) o una biblioteca derivada internamente que expresa el derivado de NP41 para identificar péptidos que se unen al tejido nervioso humano. NTQTLAKAPEHT (NP-41; SEQ ID NO: 15; véase la patente estadounidense n.º 8.685.372 o la publicación de patente internacional n.º WO2010121023A2).

Selección de péptidos:

Se obtuvieron nervios periféricos humanos de pacientes sometidos a procedimientos de resección de nervios y se homogeneizaron. La mezcla de biblioteca de fagos se incubó con homogeneizado de nervio u homogeneizados de nervio que se habían unido a placas de 6 pocillos de alta unión a proteínas. Después de la incubación, las mezclas se centrifugaron y el sedimento se lavó con PBS, o la placa se lavó con PBS. El sedimento se volvió a homogeneizar y se sembró en placas para su titulación y reamplificación o se liberó de la placa con tampón de pH bajo. Los fagos que se unieron en cada ronda se secuenciaron y se observaron repeticiones. No se identificaron repeticiones hasta la ronda 4 de selección.

Se identificaron los siguientes péptidos: SGQVPWEEPYVVKSS (HNP401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP403; SEQ ID NO: 3) de la biblioteca X16 y DTHAHAKPRVPAFKSV (SEQ ID NO: 16) se identificaron después de la ronda 5. Véanse los péptidos de la tabla 2.

Table 2: Péptidos identificados

Nombre	Secuencias de repetición	Número de repeticiones	SEQ ID NO:
HNP 401	SGQVPWEEPYVVKSS	>10	1
HNP 402	WEYHYVDLNWTSQHPQ	>10	2
HNP 403	DLPDIWDFNWETA	7	3

Demostración de la unión del péptido a los nervios humanos:

Para determinar la afinidad de los péptidos seleccionados por fagos por la unión al nervio humano, se sintetizaron químicamente mediante síntesis en fase sólida y se marcaron con fluoresceína en el extremo C-terminal mediante un ligador GGC. Los péptidos se aplicaron por vía tópica al nervio sural humano seccionado y al músculo temporal humano para determinar el contraste entre el nervio y el músculo. HNP401 mostró la mayor unión y el resaltado de los humanos nunca (figura 8). Se muestran adicionalmente los datos para otros péptidos seleccionados en nervios humanos y controles incluyendo carboxifluoresceína libre y NP41 seleccionados en nervios humanos. Para confirmar la unión y el contraste de HNP401 para tipos de nervios adicionales, se comparó la unión en nervios y músculos tanto con HNP401 como con NP41 en el nervio del plexo braquial facial (figura 9). Para cuantificar la unión diferencial al nervio humano frente al músculo, se midió la intensidad de la señal de fluorescencia para las ROI del perineurio de nervios seleccionados y músculo temporal humano que se habían tratado de manera idéntica con aplicación tópica de péptidos de unión a nervios marcados con fluoresceína. FAM-HNP401 mostró unión selectiva al nervio sural humano con intensidad de señal fluorescente $10,9X$ ($1374,44 \pm 425,96$) en comparación con FAM-NP41 ($126,17 \pm 61,03$) (figura 9G), $p = 0,009$, prueba de la t de Student, datos independientes). El contraste entre el nervio y el músculo fue comparable a $3,03 \pm 0,57$ para FAM-HNP401 y $2,28 \pm 0,96$ para FAM-NP41 (figura 9H), $p = 0,236$, prueba de la t de Student, datos independientes). Las pruebas dependientes de la dosis muestran que el HNP401 tiene una unión nerviosa significativa hasta $10 \mu M$ (figura 10A-E) con unión humana nerviosa aumentada de HNP401 en comparación con NP41 detectada a concentraciones tan altas como $375 \mu M$ (figura 10 F-I). El FAM-HNP401 se sometió a prueba adicionalmente por vía tópica en tejido *ex vivo* para marcar el nervio facial de ratón con el músculo circundante (figura 10, J-M). La imagen confocal también mostró que HNP401-FAM se une a epineurio, perineurio y endoneurio, pero no a axones (figura 10N).

Obtención de imágenes de fluorescencia *in vivo* del nervio ciático en ratones a los que se inyectaron 450 nmoles de

FAM-HNP401 (figura 11A) o FAM-NP41 (figura 11B) mostró contraste nervioso con HNP401 que tenía intensidad fluorescente 2,3 veces en comparación con (NP41) (figura 11C) pero con un contraste de nervio a no nervio similar $5,79 \pm 0,81$ para FAM-HNP401 y $6,63 \pm 1,63$ para FAM-NP41 (figura 11D). FAM-HNP401 también remarca el nervio de próstata de rata (figura 11E-F) y nervio ciático de rata (figura 11G) a una dosis de 2 μmol cuando se obtienen imágenes 3 horas después de la inyección o alternativamente usando una dosis inferior de 0,5 μmol de HNP401 con obtención de imágenes 10 minutos después de la inyección de la sonda. La depuración de sangre de FAM-HNP401 después de la inyección de 100 nmoles por vía i.v. mostró una semivida de 30 minutos que es similar a FAM-NP41 (figura 11H).

A continuación, se sometieron a prueba FAM-HNP401 y FAM-NP41 por vía tópica para determinar la unión a nervios autónomos, aislados de glándulas prostáticas cortadas de dos pacientes humanos (figura 12 y 13). FAM-HNP401 (figura 12A) mostró una señal fluorescente significativamente mayor en nervios autónomos humanos en comparación con FAM-NP41 (figura 12B) a la misma concentración. Las fibras marcadas se confirmaron como nervios usando anticuerpo anti-neurofilamento SMI312 (rojo) y DAPI (azul) para mostrar marcaje nuclear (figura 12C). También se realizó tinción con H&E para confirmar el tejido marcador como nervio (figura 12D). Se muestra la unión del nervio prostático de HNP401 usando tejido de un paciente adicional en la figura 13. Se obtuvo una tinción similar para el nervio cutáneo antebrachial sensorial periférico aislado de un brazo humano (figura 12E-H).

Síntesis y unión nerviosa de variantes de delección de HNP401

Para optimizar la secuencia de HNP401, se realizó la delección sistemática de 2 aminoácidos del extremo C-terminal o N terminal (tabla 3) seguido de análisis de unión a secciones de nervios humanas. La delección de aminoácidos del extremo C-terminal reduce la eficacia y solubilidad de la unión. La eliminación de 2 aminoácidos del extremo N-terminal mejora la unión a nervios con una intensidad de señal promedio de 1498,73 (+/-517,63) para N-2 y 744,63 (+/-130,18) para HNP401 [prueba de la t de Student, datos independientes, unilateral, $p=0,07$] (figuras 14 y 15).

Tabla 3. Lista de péptidos de unión a nervios

Péptido único	Secuencia peptídica	SEQ ID NO:
HNP401 (con ligador GGC)	Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC	4
HNP402 (con ligador GGC)	Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC	5
HNP403 (con ligador GGC)	Ac-DLPDIWDFNWETAGGC	6
HNP401-N-2 (con ligador GGC)	Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC	7
HNP401-N-4 (con ligador GGC)	Ac-PWEEPPYYVVKSSGGC	8
HNP401-N-6 con ligador GGC)	Ac-EEPYYVVKSSGGC	9
HNP401-N-8 con ligador GGC)	Ac-PYYVVKSSGGC	10
HNP401-C-2 (con ligador GGC)	Ac-SGQVPWEEPPYYVVKGGC	11
HNP401-C-4 (con ligador GGC)	Ac-SGQVPWEEPPYYVGGC	12
HNP401-C-6 (con ligador GGC)	Ac-SGQVPWEEPPYGGC	13
HNP401-C-8 (con ligador GGC)	Ac-SGQVPWEEPGGC	14

Aplicaciones y usos:

Los péptidos de unión a nervios humanos marcados con fluorescencia pueden usarse para ayudar a los cirujanos a visualizar los nervios durante procedimientos quirúrgicos antes de encontrarlos físicamente y, por tanto, dañarlos potencialmente. Esto es particularmente importante cuando los nervios son pequeños, degenerados, invadidos por cáncer, lesionados por traumatismo o infección. Por ejemplo, durante la cirugía en la glándula prostática, los nervios cavernosos que controlan las erecciones masculinas se extienden muy cerca de la glándula prostática pero no se identifican definitivamente usando luz conveniente (reflectancia de luz blanca) disponible en quirófanos.

Los conjugados péptido de unión a nervio humano-factor neurotrófico/neuroprotector pueden usarse para facilitar la reparación/regeneración de nervios dañados.

Los péptidos de unión a nervios humanos podrían conjugarse con colorantes fotosensibilizantes para uso potencial con muerte de nervios inducida por luz como tratamiento para dolor crónico.

Los péptidos de unión a nervios humanos podrían conjugarse con colorantes fotosensibilizantes para uso potencial con muerte de nervios inducida por luz como tratamiento para sudoración excesiva.

Los péptidos de unión a nervios humanos podrían conjugarse con colorantes fotosensibilizantes para uso potencial con muerte de nervios inducida por luz como tratamiento para hipertensión renovascular.

- 5 Los péptidos de unión a nervios humanos podrían conjugarse con colorantes fotosensibilizantes para uso potencial con muerte de nervios inducida por luz como tratamiento para arritmias cardíacas.

10 Los péptidos de unión a nervios humanos podrían conjugarse con colorantes fotosensibilizantes para uso potencial con muerte de nervios inducida por luz como tratamiento para espasmos musculares patológicos (síndrome de Meige, espasmo hemifacial, tortícolis).

Bibliografía:

- 15 1. Burke S y Shorten GD. When pain after surgery doesn't go away. *Biochem Soc Trans.* 2009;37:318-22.
2. Gaillard C, Perie S, Susini B y St Guily JL. Facial nerve dysfunction after parotidectomy: the role of local factors. *The Laryngoscope.* 2005;115:287-91.
- 20 3. Witt RL. Comparing the long-term outcome of immediate postoperative facial nerve dysfunction and vocal fold immobility after parotid and thyroid surgery. *J Voice.* 2006;20:461-5.
4. Darrouzet V, Martel J, Enée V, Bébear J y Guérin J. Vestibular schwannoma surgery outcomes: our multidisciplinary experience in 400 cases over 17 years. *Laryngoscope.* 2004;114:681-8.
- 25 5. Rosenthal L, Benninger M y Deeb R. Vocal fold immobility: a longitudinal analysis of etiology over 20 years. *Laryngoscope.* 2007;117:1864-70.
6. Nason RW, Binahmed A, Torchia MG y Thliversis J. Clinical observations of the anatomy and function of the marginal mandibular nerve. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007;36:712-5.
- 30 7. Woltmann M, Faveri R y Sgrott EA. Anatomosurgical study of the marginal mandibular branch of the facial nerve for submandibular surgical approach. *Braz Dent J.* 2006;17:71-4.
8. Lineaweaver W, Rhoton A y Habal M. Microsurgical anatomy of the facial nerve. *J Craniofac Surg* 1997;8:6-10.
- 35 9. Gosain A, Sewall S y Yousif N. The temporal branch of the facial nerve: how reliably can we predict its path? *Plast Reconstr Surg* 1997;99:1224-33.
10. Tzafetta K y Terzis J. Essays on the facial nerve: Part I. Microanatomy. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125:879-89.
- 40 11. Haller J, Iwanik M y Shen F. Clinically Relevant Anatomy of Recurrent Laryngeal Nerve. *Spine (Phila Pa 1976)* 2011; Publicación electrónica antes de impresión.
12. Ebraheim N, Lu J, Skie M, Heck B y Yeasting R. Vulnerability of the recurrent laryngeal nerve in the anterior approach to the lower cervical spine. *Spine (Phila Pa 1976).* 1997;15:2664-7.
- 45 13. Walsh P. Anatomic radical prostatectomy: evolution of the surgical technique. *J Urology.* 1998;160:2418-24.
14. Tewari A, Peabody J, Fischer M, Sarle R, Vallancien G, Delmas V, Hassan M, Bansal A, Hemal A, Guillonnet B y Menon M. An operative and anatomic study to help in nerve sparing during laparoscopic and robotic radical prostatectomy. *Eur Urology.* 2003;43:444-454.
- 50 15. Costello A, Brooks M y Cole O. Anatomical studies of the neurovascular bundle and cavernosal nerves. *British Journal of Urology International* 2004;94:1071-6.
- 55 16. Kalyana CN, Rupesh R, Ashok A y Craig DZ. Nerve-Sparing Surgery Significantly Affects Long-Term Continence After Radical Prostatectomy. *Urology.* 2007;70:1127-30.
17. Gallina A, Briganti A, Suardi N, Capitanio U, Abdollah F, Zanni G, Salonia A, Rigatti P and Montorsi F. Surgery and erectile dysfunction. *Archives Esp Urology.* 2010;63:640-8.
- 60 18. Zhao L, Meeks J and Nadler R. Robotics in urologic surgery. *Minerva Urol Nefrol.* 2009;61:331-9.
19. van der Meijden O y Schijven M. The value of haptic feedback in conventional and robot-assisted minimal invasive surgery and virtual reality training: a current review. *Surg Endosc.* 2009;23:1180-90.
- 65

20. Gantz B. Intraoperative facial nerve monitoring. *The American Journal of Otology*. Noviembre de 1985; supl:58-61.
21. Miller M y Spiegel J. Identification and monitoring of the recurrent laryngeal nerve during thyroidectomy. *Surgical Oncology Clinics of North America*. 2008;17:121-44, viii-ix.
22. WE D, JL R y J T. Recurrent laryngeal nerve localization using a microlaryngeal electrode. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 1979;87:330-333.
23. J W, AL B, AJ C, JA E, M G, B G, M M, F M, RP M, B R y A V. A critical analysis of the current knowledge of surgical anatomy related to optimization of cancer control and preservation of continence and erection in candidates for radical prostatectomy. *European Urology*. 2010;57:179-92.
24. J W, M G y H H. Basic principles of anatomy for optimal surgical treatment of prostate cancer. *World Journal of Urology*. 2007;25:31-8.
25. HR K, TY T, L S, J V, MJ H y P D. Impact of nerve sparing technique on patient self-assessed outcomes after radical perineal prostatectomy. *Journal of Urology*. 2007;178:488-92.
26. Kubler HR, Tseng TY, Sun L, Vieweg J, Harris MJ y Dahm P. Impact of nerve sparing technique on patient self-assessed outcomes after radical perineal prostatectomy. *J Urol*. 2007;178:488-92; discussion 492.
27. Chitchian S, Weldon T, Fiddy M y Fried N. Combined image-processing algorithms for improved optical coherence tomography of prostate nerves. *J Biomed Opt*. 2010;15:046014.
28. Zhivov A, Blum M, Guthoff Rand Stachs O. Real-time mapping of the subepithelial nerve plexus by in vivo confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol* 2010;94:1133-5.
29. M OM, J W, J C, R L, T H y D H. Fluorescent retrograde axonal tracing of the facial nerve. *Laryngoscope*. 2006;116:1792-1797.
30. Marangos N, Illing R, Krüger J y Laszig R. In vivo visualization of the cochlear nerve and nuclei with fluorescent axonal tracers. *Hearing Research*. 2001;162:48-52.
31. C K, R A, I B, JL L, J M y S T. Current concepts in neuroanatomical tracing. *Progress in Neurobiology*. 2000;62:327-351.
32. FJR R, R G, JL C, S K, E S y DB T. Efficacy of seven retrograde tracers, compared in multiple-labelling studies of feline motoneurons. *Journal of Neuroscience Methods* 1994;53:35-46.
33. Boyette LB, Reardon MA, Mirelman AJ, Kirkley TD, Lysiak JJ, Tuttle JB y Steers WD. Fiberoptic imaging of cavernous nerves in vivo. *J Urol*. 2007;178:2694-700.
34. Wagner OJ, Louie BE, Vallieres E, Aye RW y Farivar AS. Near-infrared fluorescence imaging can help identify the contralateral phrenic nerve during robotic thymectomy. *Ann Thorac Surg*. 2012;94:622-5.
35. Chen SC, Wang MC, Wang WH, Lee CC, Yang TF, Lin CF, Wang JT, Liao CH, Chang CC, Chen MH, Shih YH y Hsu SP. Fluorescence-assisted visualization of facial nerve during mastoidectomy: A novel technique for preventing iatrogenic facial paralysis. *Auris Nasus Larynx*. 2015;42:113-8.
36. Gibbs-Strauss SL, Nasr KA, Fish KM, Khullar O, Ashitate Y, Siclovan TM, Johnson BF, Barnhardt NE, Tan Hehir CA y Frangioni JV. Nerve-highlighting fluorescent contrast agents for image-guided surgery. *Mol Imaging*. 2011;10:91-101.
37. Massaad CA, Zhang G, Pillai L, Azhdarinia A, Liu W y Sheikh KA. Fluorescently-tagged anti-ganglioside antibody selectively identifies peripheral nerve in living animals. *Sci Rep*. 2015;5:15766.
38. Gibbs SL, Xie Y, Goodwill HL, Nasr KA, Ashitate Y, Madigan VJ, Siclovan TM, Zavodszky M, Tan Hehir CA y Frangioni JV. Structure-activity relationship of nerve-highlighting fluorophores. *PLoS One*. 2013;8:e73493.
39. Coterio VE, Kimm SY, Siclovan TM, Zhang R, Kim EM, Matsumoto K, Gondo T, Scardino PT, Yazdanfar S, Laudone VP y Tan Hehir CA. Improved Intraoperative Visualization of Nerves through a Myelin-Binding Fluorophore and Dual-Mode Laparoscopic Imaging. *PLoS One*. 2015;10:e0130276.
40. Coterio VE, Siclovan T, Zhang R, Carter RL, Bajaj A, LaPlante NE, Kim E, Gray D, Staudinger VP, Yazdanfar S y Tan Hehir CA. Intraoperative fluorescence imaging of peripheral and central nerves through a myelin-selective

contrast agent. *Mol Imaging Biol.* 2012;14:708-17.

41. Gray D, Kim E, Cotero V, Staudinger P, Yazdanfar S y Hehir CT. Compact Fluorescence and White Light Imaging System for Intraoperative Visualization of Nerves. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng.* 2012;8207.

42. Hackman KM, Doddapaneni BS, Barth CW, Wierzbicki IH, Alani AW y Gibbs SL. Polymeric Micelles as Carriers for Nerve-Highlighting Fluorescent Probe Delivery. *Mol Pharm.* 2015;12:4386-94.

43. Wang C, Wu C, Popescu DC, Zhu J, Macklin WB, Miller RH y Wang Y. Longitudinal near-infrared imaging of myelination. *J Neurosci.* 2011;31:2382-90.

Ejemplo 3: sondas dirigidas a nervios para la obtención de imágenes intraoperatorias guiadas por fluorescencia

Sumario

Un objetivo fundamental de muchas cirugías es la conservación de nervios, ya que las lesiones inadvertidas pueden conducir a morbilidad del paciente incluyendo entumecimiento, dolor, parálisis localizada e incontinencia. La identificación de nervios durante la cirugía se basa actualmente en múltiples parámetros, incluyendo anatomía, textura, color y relación con las estructuras circundantes para distinguir nervios de tejidos no nerviosos. Usando iluminación con luz blanca, que es la norma en los quirófanos actuales, la diferencia visual entre nervios y tejido adyacente puede ser imperceptible. Se desarrolló previamente una sonda dirigida a nervios, FAM-NP41, que se une a y resalta los nervios motores y sensoriales de roedores después de la administración sistémica. En este caso, se demuestra que FAM-NP41 puede resaltar nervios autónomos dentro de la glándula prostática en ratones vivos y ratas con contraste significativo de nervio a no nervio en nervios tan pequeños como 50 μm de diámetro.

Para traducir esta metodología para uso clínico potencial en pacientes humanos, se usó presentación en fagos para identificar un nuevo péptido (HNP401) que se une selectivamente a nervios humanos. FAM-HNP401 puede unirse y resaltar múltiples nervios periféricos humanos, incluyendo el nervio sural de la pierna, el nervio antebraquial medial del brazo superior y los nervios autónomos, incluyendo el nervio cavernoso que rodea la glándula prostática humana. El dominio de unión de HNP401 se identificó por selección secuencial de aminoácidos del péptido de longitud completa. El HNP401 o una variante optimizada podría traducirse para su uso en un entorno clínico para la identificación intraoperatoria de nervios humanos para mejorar la visualización y disminuir potencialmente la incidencia de lesión nerviosa intraquirúrgica.

Introducción

Un objetivo fundamental de la cirugía es la conservación de la función nerviosa para minimizar la morbilidad del paciente. La identificación actual de nervios durante la cirugía utiliza criterios no cuantificables tales como anatomía, textura, color y relación con las estructuras circundantes. En casos de traumatismo, invasión o infección tumoral, la identificación de nervios usando los criterios anteriores puede ser incluso más desafiante. Usando reflectancia de luz blanca, la diferencia visual entre nervios, especialmente nervios pequeños como los nervios autónomos dentro de la próstata, y tejido adyacente puede ser imperceptible. La lesión inadvertida a estos nervios delgados o enterrados es una de las consecuencias más mórbidas, pero no intencionadas de cirugía que puede conducir a pérdida de función, entumecimiento, y dolor neuropático inducido por cirugía [1]. Por ejemplo, la prostatectomía radical (RP) puede realizarse para el cáncer de próstata localizado con un excelente control locorregional Sin embargo, incluso con la conservación de nervios de la prostatectomía radical hay un riesgo significativo de disfunción eréctil y/o incontinencia urinaria, debido a lesión inadvertida a nervios autónomos o a los haces neurovasculares autónomos [4, 5]. La conservación de los haces neurovasculares autónomos a lo largo de la cara posterolateral de la próstata es un aspecto importante para la conservación funcional durante la RP. Las propias fibras nerviosas autónomas rara vez se visualizan, pero se supone que su posición sigue a lo largo de estructuras vasculares. La posición exacta y la distribución de estos nervios autónomos son variables de paciente a paciente complicando el uso de ubicación anatómica como único método de evitación [6-8] y puede producirse lesión incluso en las manos más experimentadas. Estudios recientes mostraron que sólo el 7 % de los pacientes con RP recuperaron el estado prequirúrgico de la función eréctil completa en el primer año [9] y el 16 % recuperaron la función eréctil inicial 2 años después de la prostatectomía [10].

Las herramientas para mejorar la visualización de las estructuras neurales en la próstata tienen un gran potencial para reducir la morbilidad de la prostatectomía radical, así como aplicaciones en muchas otras cirugías conservadoras de nervios, incluyendo resección de cáncer, traumatismo y procedimientos reconstructivos. La administración sistémica de un agente de obtención de imágenes de nervios podría permitir el marcaje de todos los nervios relevantes con una administración de una sola sonda. Previamente, los métodos informados se basan en el trazado retrógrado o anterógrado de tractos axonales individuales mediante la aplicación directa de colorantes fluorescentes al sitio de inervación [11, 12]. Se han investigado colorantes de estiril piridinio [13-15], colorantes de aminoestiril [16-18], oxazina 4 [19, 20] y anticuerpos antigangliósido [21] en diversos modelos preclínicos para detectar nervios motores, sensoriales y autónomos.

Una secuencia peptídica, el péptido nervioso 41 (NP41), se identificó previamente a través de la presentación en fagos que preferentemente se une y destaca el tejido nervioso periférico, mejorando la visualización de los nervios motores y sensoriales en ratones vivos después de la inyección sistémica [22-24]. Este péptido tiene una afinidad relativamente baja por los nervios y una rápida eliminación por aclaramiento en sangre (en comparación con los anticuerpos) de modo que puede visualizarse unas pocas horas después de la inyección sistémica con un lavado casi completo a las 24 horas [22], también se ha demostrado que NP41 resalta los nervios degenerados a través de la unión a lamininas estructurales en las fibras nerviosas [24, 25]. Ahora se ha usado este péptido para la identificación intraoperativa de nervios autónomos en la próstata tanto de ratones como de ratas. Para permitir la traducción clínica de los métodos de visualización de nervios para su uso en cirugías que implican pacientes humanos, ahora se ha usado la presentación en fagos para identificar un nuevo péptido HNP401 que, cuando se marca con fluoróforo, se une selectivamente y resalta los nervios humanos. El HNP401 marcado con fluorescencia puede unirse a y resaltar nervios sensoriales y motores humanos tales como nervios duros, cutáneos antebraquiales medios, laríngeos, ansa cervicalis, nervios auriculares grandes y autonómicos como los que están dentro y alrededor de la glándula prostática.

Resultados

Para visualizar los nervios autónomos dentro de la próstata de ratones, se inyectó por vía intravenosa péptido NP41 conjugado con fluoresceína (FAM-NP41) seguido de obtención de imágenes de la próstata y el tejido circundante después de la resección quirúrgica. La fuerte fluorescencia del colorante que se acumula rápidamente en la vejiga impidió la visualización de los nervios dentro de la próstata. Para mejorar la visualización, la vejiga se drenó quirúrgicamente de orina y se suturó antes de la obtención de imágenes. La uretra, una estructura anatómicamente distinta, nunca se vacía de orina ya que los ratones están vivos durante la duración del experimento, dando como resultado un paso continuo de orina que lleva colorante peptídico metabolizado a la vejiga a través de la uretra. Para ayudar en la futura investigación, se ha demostrado el uso de un colorante extintor fluorescente (tanto inyectado directamente en la vejiga como mediante administración oral) para reducir la alta fluorescencia de la vejiga, como alternativa al drenaje quirúrgico de la vejiga (figura 21). Se inyectó FAM-NP41 a dosis que oscilaban desde 150-600 nmoles (~16 a 66 mg/kg) con una dosis de 600 nmoles (~30 nmoles/g) que mostraba contraste nervioso autónomo óptimo (figuras 16A-16G). La imagen fluorescente de baja ampliación muestra el resaltado de una fibra nerviosa única que discurre adyacente a la uretra (figura 16A). El nervio es extremadamente débil en una imagen de alta ampliación usando reflectancia de luz blanca (figura 16B) pero se vuelve claramente visible con el marcaje con FAM-NP41 (figura 16C). Para cuantificar la detección de nervios, se inyectó a un total de 10 ratones 600 nmoles de FAM-NP41 y se midió la intensidad de la señal para el nervio frente al tejido no nervioso adyacente usando tanto fluorescencia como reflectancia de la luz blanca. Los valores a la derecha de la línea indican que hay una visualización mejorada con fluorescencia en comparación con la luz reflejada. La intensidad media de la señal de nervio a no nervio con orientación fluorescente fue de $1,256 \pm 0,14$ ($n = 12$, $p < 0,001$) en comparación con $1,086 \pm 0,07$ ($n = 12$) para la reflectancia de la luz blanca (figura 16D).

Debido a que los nervios prostáticos en ratones eran muy pequeños y desafiantes a la obtención de imágenes (es decir, requerían una dosis elevada de FAM-NP41), los presentes inventores extendieron el estudio a la visualización del nervio autónomo dentro de la próstata de ratas. Para visualizar los nervios autónomos en ratas Sprague Dawley macho, se inyectó FAM-NP41 por vía intravenosa a una dosis de 12 nmol/gramo, seguido de obtención de imágenes. Esta es una dosis 2,5X menor en relación con el peso en comparación con los 600 nmoles usados en ratones de 20 gramos. El marcaje útil se produjo de 2 a 6 horas después de la administración intravenosa, que se visualizó usando un microscopio personalizado de disección de fluorescencia. El resaltado del nervio FAM-NP41 permite la visualización de las fibras nerviosas que discurren a través del centro de la próstata de la rata (figura 16E). La obtención de imágenes de mayor aumento mostró que FAM-NP41 adicionalmente resaltaba las ramas nerviosas autónomas que rodean el haz neurovascular (figura 16G) que se desplazan dentro de la cápsula grasa de la glándula prostática. Estos nervios ramificados no fueron visibles usando obtención de imágenes por reflectancia de luz blanca (figura 16F). Para cuantificar el marcaje selectivo de nervios autónomos en ratas, se obtuvieron imágenes de los nervios dentro de la glándula prostática con fluorescencia y reflectancia de la luz blanca. La intensidad media de la señal de nervio a no nervio de la fluorescencia fue de $1,275 \pm 0,02$ ($n = 3$) en comparación con $1,083 \pm 0,01$ ($n = 3$) para la reflectancia de la luz blanca. Para mostrar la aplicabilidad a la obtención de imágenes intraquirúrgicas, se mostró que se observó un contraste nervioso similar en ratas vivas usando un sistema de obtención de imágenes Zeiss Pento de grado clínico (figura 16H). El Zeiss Penteroscope que está aprobado para uso clínico se superpone a la imagen fluorescente de FAM-NP41 (amarillo) en la imagen de luz blanca con recopilación de datos en tiempo real (figura 16H). Los registros durante la manipulación quirúrgica muestran fibras fluorescentes dentro de la próstata que claramente se presentan como nervios que son detectables usando la guía fluorescente NP41-FAM (datos no mostrados). Para confirmar que las estructuras marcadas con fluorescencia eran de hecho nervios, se usó guía quirúrgica fluorescente en tiempo real para diseccionar selectivamente fibras fluorescentes que se pensaba que eran nervios (figura 22: A). Las fibras fluorescentes diseccionadas se colocaron entonces verticalmente y se congelaron instantáneamente en compuesto de incrustación de OCT. Se obtuvieron imágenes de secciones transversales verticales usando fluorescencia para mostrar que las fibras nerviosas sospechosas estaban centradas en portaobjetos (figura 22: B). Se confirmó que las fibras eran nerviosas ya que se marcaron con fluorescencia usando análisis inmunohistoquímico doble con anticuerpos contra cualquier fluoróforo (figura 22: C) o tirosina hidroxilasa (figura 22: D), un marcador conocido para nervios autónomos no mielinizados. No

se detectó inmunotinción en ausencia de anticuerpo primario (figura 22: E)

Para permitir la traducción de un péptido de iluminación nerviosa para su uso en pacientes humanos, se realizó la presentación en fagos para identificar péptidos de unión a nervios humanos usando una biblioteca de fagos m13 que expresa 16 secuencias de aminoácidos aleatorias en el extremo N-terminal de gIII (Creative Biolabs). Los fagos se seleccionaron usando rondas iterativas de selección para la unión al nervio sural humano con selección negativa al músculo y la grasa. La contraselección de músculos y grasa se realizó absorbiendo previamente la biblioteca con estos tejidos antes de la selección para la unión al nervio humano. Los fagos individuales se secuenciaron después de cada ronda de selección y tres secuencias específicas SGQVPWEEPYVVKKS (HNP401; SEQ ID NO: 1) y WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP402; SEQ ID NO: 2) DLPDIWDFNWTAG (HNP403; SEQ ID NO: 3) estaban altamente enriquecidas después de 5 y 6 rondas.

Para someter a prueba la afinidad de péptidos de presentación en fagos seleccionados por la unión a nervios humanos, se sintetizaron químicamente mediante síntesis en fase sólida y se marcaron con fluoresceína en el extremo C-terminal. Los péptidos se aplicaron por vía tópica a secciones de nervio sural humano y músculo temporal obtenidos quirúrgicamente para determinar el contraste entre el nervio y el músculo para péptidos y controles seleccionados (figura 23). Los controles que incluían colorante libre (carboxifluoresceína) también se ensayaron en diversos nervios de múltiples tejidos de pacientes para confirmar la especificidad de conjugados de colorante peptídico para unirse al nervio humano (figura 24). Se demostró que el control de colorante libre no reactivo, tal como carboxifluoresceína, tiene sólo una unión débil no específica y no es eficaz para aplicaciones tópicas. FAM-HNP401 produjo el mayor contraste y se demostró que era superior al péptido de unión al nervio de roedor previamente informado FAM-NP41 [22], cuando se aplicó por vía tópica al nervio sural humano (figura 17). Para cuantificar la unión diferencial al nervio frente al músculo, se midió la intensidad de la señal de fluorescencia para las ROI del perineurio de nervios seleccionados y músculo temporal humano. FAM-HNP401 mostró unión selectiva al nervio sural humano con intensidad de señal fluorescente $10,9X$ ($1374,44 \pm 425,96$) en comparación con FAM-NP41 ($126,17 \pm 61,03$) (figura 17D, $p = 0,009$, prueba de la t de Student, datos independientes). El contraste entre el nervio y el músculo fue comparable a $3,03 \pm 0,57$ para FAM-HNP401 y $2,28 \pm 0,96$ para FAM-NP41 (figura 17H, $p = 0,236$, prueba de la t de Student, datos independientes).

También se sometió a prueba FAM-HNP401 por vía tópica en tejido *ex vivo* para marcar el nervio facial de ratón con el músculo circundante donde no funcionaba tan bien como FAM-NP41 (figura 25: J-M). Para comparación, se muestra el marcaje de tejido *ex vivo* de nervio laríngeo humano con músculo circundante con FAM-NP41 y FAM-HNP401 (figuras 25: F-I). La autofluorescencia del nervio humano sin tratamiento del conjugado de colorante peptídico fue despreciable en comparación con la intensidad de señal adquirida después de la aplicación tópica de FAM-HNP401 (figura 26). FAM-HNP401 también tiene una intensidad de señal $2,3X$ más alta para la unión *in vivo* al nervio ciático de ratón en comparación con FAM-NP41 (figura 18 A-C). El contraste entre nervios y músculos circundantes es comparable para los dos péptidos (figura 18D). FAM-HNP401 también resaltó el nervio ciático de rata (figura 18E) y nervio prostático (figura 18F) a una dosis de $2 \mu\text{mol}$ ($\sim 54 \text{ mg/kg}$) cuando se obtuvieron imágenes 3 horas después de la inyección. La vejiga se drenó con una jeringa y se suturó para evitar el derrame y la contaminación alrededor de la próstata. La orina recogida se analizó por espectrometría de masas y, tal como se esperaba, se detectaron fragmentos del péptido con el colorante unido, lo que indicaba que el péptido en la vejiga se metabolizaba parcialmente (figura 27). Los nervios autonómicos dentro de la próstata y adyacentes al haz vascular pueden visualizarse fácilmente cuando se obtienen imágenes a un aumento mayor usando una dosis de $0,5 \mu\text{mol}$ ($13,4 \text{ mg/kg}$) de FAM-HNP401 10 minutos después de la inyección de la sonda (figura 18G). La eliminación por aclaramiento en sangre de FAM-HNP401 mostró una semivida de 30 minutos que es similar a FAM-NP41 (figura 18H). El contraste nervioso óptimo se detectó usando $50\text{-}100 \mu\text{M}$ (figuras 25: A-E) con obtención de imágenes confocales de alta resolución a baja concentración ($10 \mu\text{M}$) que muestran que FAM-HNP401 se une con mayor afinidad al perineurio, epineurio y endoneurio mientras se excluye de los axones (figura 25: N). La señal de FAM-HNP401 del nervio humano se satura en $100 \mu\text{M}$ mientras que la señal de FAM-NP41 continúa aumentando incluso a $375 \mu\text{M}$, pero la intensidad de la señal permanece mucho más baja que la de HNP401 aplicada a la misma concentración (figuras 25: F y H). La estabilidad de FAM-HNP401 en plasma humano a los 5 minutos y a las 2 horas se determinó mediante incubación del conjugado de péptido y colorante en suero humano antes del análisis mediante espectrometría de masas. Para el análisis, se determinó el área bajo la curva a 450 nm y la masa correspondiente de FAM-HNP401 después de la inyección de un volumen fijo de analito en la CL-EM (figuras 28: A-B). Para comparación, también se sometió a prueba la estabilidad de FAM-NP41 en plasma humano (figuras 28: C-D). La integración del área del pico a los 5 minutos y 2 horas indica que tanto FAM-HNP401 como FAM-NP41 eran estables en suero humano. Se usó el área de corriente iónica extraída para determinar la cuantificación de péptidos. No se observó degradación del conjugado péptido-FAM, con idéntica concentración detectada a los 5 min y 2 horas de incubación con plasma humano a partir del análisis de la corriente iónica. Los péptidos se sometieron a prueba de manera análoga y mostraron ser estables en líquido cefalorraquídeo de rata después de 2 horas de exposición (figuras 28: E-F).

Se sometieron a prueba FAM-HNP401 y FAM-NP41 para determinar la unión a nervios autónomos, aislados de las glándulas prostáticas de dos pacientes humanos (figuras 19 y 29). FAM-HNP401 (figuras 19A y 29A) mostró una señal fluorescente significativamente mayor en nervios autónomos (cavernosal) en comparación con FAM-NP41

(figuras 19B y 29B). La cuantificación no se realizó porque sólo estaban disponibles 2 muestras de pacientes para la prueba ya que la resección de nervios durante la prostatectomía radical sólo se realiza en casos de invasión capsular gruesa. Las fibras marcadas se confirmaron como nervios usando anticuerpo anti-neurofilamento SMI312 (rojo) con DAPI (azul) para mostrar marcaje nuclear (figura 19C). La tinción con H&E también confirmó el marcado de tejido como nervio mediante histología (figura 19D). El SMI312 no tiñe el perineurio debido a la falta de fibras de neurofilamentos en esta región del haz nervioso. La tinción con SMI312 muestra que el tejido aislado es un nervio debido a la tinción de estructuras de neurofilamentos que soportan los axones. Se obtuvo una tinción similar usando FAM-HNP401 para otro nervio sensorial (cutáneo antebraquial) aislado del brazo humano que muestra la actividad de unión al nervio amplio de HNP401 (figuras 19E-H).

Para optimizar e intentar determinar el dominio de unión al núcleo de HNP401, se realizó la delección sistemática de dos aminoácidos del extremo C-terminal o N-terminal (véase, por ejemplo, la figura 30) seguido de análisis de unión en secciones de nervio dural humano (figura 20). En cada caso, la unión nerviosa y la intensidad de la señal se normalizaron al péptido FAM-HNP401 parental (figura 20J). Se toleró la eliminación de la serina C-terminal (C-2), pero tras la eliminación de lisina (C-4), la solubilidad y la unión se redujeron drásticamente con una intensidad de señal promedio normalizada de $0,49 \pm 0,11$ para la unión nerviosa de HNP401-C-4 (figura 20F). La delección de aminoácidos del extremo N-terminal es muy bien tolerada. La delección de la serina y glicina N-terminales mejoró la unión selectiva de nervios aproximadamente 2 veces con una intensidad de señal promedio normalizada de $2,02 \pm 0,65$ para HNP401-N-2 (figuras 20A y 20J, $p = 0,026$, prueba de la t de Student, datos independientes, unilateral). HNP401-N-4 tiene aminoácidos no polares en su extremo N-terminal que redujo la unión a una intensidad de señal promedio normalizada de $0,56 \pm 0,18$ (figura 20B). La eliminación de aminoácidos no polares, triptófano y prolina, restableció cierta intensidad de unión de nuevo a los niveles de FAM-HNP401 con HNP401-N-6 (figura 20C) y HNP401-N-8 (figura 20D) que tienen intensidades de señal nerviosa media normalizadas de $1,0 \pm 0,34$ y $0,98 \pm 0,31$. La eficacia de unión restablecida puede deberse a una solubilidad mejorada que minimiza la microagregación que se produjo cuando están presentes residuos muy hidrófobos en el extremo N-terminal del péptido. Los estudios de delección del extremo C-terminal y N-terminal de HNP-401 indican que el dominio de unión central probablemente incluye PYYVVKK con los residuos N-terminales QVPWEE contribuyendo a la unión potenciada detectada con HNP401-N-2. El contraste normalizado de nervio a músculo temporal para HNP401-N-2 dio un aumento de 3 veces con respecto a FAM-HNP401 (figura 20K, $p = 0,011$, prueba de la t de Student, datos independientes, unilateral).

Discusión

Se han usado desde hace tiempo diversas sustancias trazadoras para mapear la conectividad en el sistema nervioso, aunque la mayoría de ellas han dependido del rastreo anterógrado o retrógrado después de la aplicación local [11, 12, 26, 27]. El transporte de los trazadores es relativamente lento con el desarrollo del contraste a medida que el colorante se aleja del sitio de inyección [26, 27]. Es probable que no sea práctico marcar las grandes áreas expuestas para cirugías usando estos métodos ya que tendrían que identificarse y marcarse independientemente múltiples tractos nerviosos. Existen informes de rastreo del haz neurovascular retrógrado y del ganglio pélvico principal con colorantes lipófilos en roedores [4, 28]. Más recientemente, se han investigado colorantes de estiril piridinio [1315], colorantes de aminoestiril [16-18], oxazina 4 [19, 20] y anticuerpos antigangliósido [21] en diversos modelos preclínicos para detectar nervios motores, sensoriales y autónomos. Los colorantes solos no tienen mecanismo selectivo para direccionamiento a nervios, pero normalmente se acumulan en la mielina. Se sabe que la mielina está presente en baja abundancia o está ausente en nervios autónomos que podrían limitar el uso de colorantes libres para resaltar estos nervios finos pero cruciales [29, 30]. La aplicación tópica y epidural de colorantes libres se ha usado para marcar localmente nervios en modelos animales, sin embargo, estos enfoques pueden estar limitados en flexibilidad durante cirugías humanas a medida que se retira el tejido y el campo de visión cambia [20, 31]. Los anticuerpos antigangliósido tienen una dirección específica, pero tienen largas semividas en sangre que probablemente requerirían inyección múltiples días antes de la cirugía y puede ser más probable que provoquen una respuesta inmunitaria [32, 33]. La inyección sistémica de péptidos marcados con fluorescencia para marcar nervios supera las principales desventajas de estos trazadores marcando todos los nervios en el cuerpo con una única inyección de conjugado de péptido y colorante. Previamente se informó sobre NP41 para unirse a nervios motores y sensoriales de roedores y ahora se demuestra su aplicación potencial a la identificación de nervios autónomos finos en modelos de roedores. Se encontró un aumento promedio del 17 % en la señal de nervio a no nervio usando obtención de imágenes de fluorescencia en comparación con el contraste obtenido por reflectancia de luz blanca. Esto es un logro significativo dada la naturaleza no mielinizada de estos nervios y su estructura ultrafina. Sin embargo, la aplicación tópica de NP41 a humanos *ex vivo* proporcionó poco contraste en comparación con el músculo. Para potenciar el resaltado de nervios humanos con los que ahora se ha identificado HNP401, un nuevo péptido que se une a y resalta nervios motores/sensoriales y autónomos humanos.

Se espera que FAM-HNP-401 o análogo optimizado pueda permitir la traducción clínica de métodos de visualización nerviosa para su uso en cirugías que implican pacientes humanos. HNP401 marcado con fluorescencia puede unirse y resaltar nervios surales, mediales, cutáneos, laríngeos y autónomos humanos dentro y alrededor de la glándula prostática. FAM-HNP401 muestra una alta intensidad de señal y un marcado reproducible de haces nerviosos en comparación con su control de colorante de carboxifluoresceína. La carboxifluoresceína muestra una baja señal y una unión no específica al nervio en secciones de nervios humanas tópicas. No pueden usarse colorantes tales como isotiocianato de FITC como control ya que reaccionarán con todas las cadenas laterales nucleófilas de

proteínas expuestas por seccionamiento transversal en tejido no fijado. Adicionalmente, el FITC-dextrano, aunque se usa clínicamente, no es un control viable para los experimentos, ya que marca la vasculatura que incluye microvasos sanguíneos profundos dentro de la sección transversal del nervio y es un marcador de lesión nerviosa y dolor neuropático [34]. Además, su gran tamaño afecta al perfil farmacocinético del colorante. FAM-HNP401 proporcionó de manera consistente una señal 10 veces mayor para la unión del nervio humano en comparación con el conjugado de colorante peptídico FAM-NP41 previamente identificado. Una intensidad de señal más alta es una ventaja para la obtención de imágenes en tiempo real que requiere tiempos de exposición cortos. HNP401 también mostró un contraste de 3 veces para nervio a músculo en secciones tópicas en tejido humano *ex vivo*. FAM-HNP401 tiene un perfil de aclaramiento sanguíneo similar al de NP41 en ratones [22]. FAM-HNP401 se une a nervios mielinizados y no mielinizados. El anticuerpo SMI312, que marca neurofilamentos no se colocaliza con tinción de FAM-HNP401, lo que demuestra que FAM-HNP401 no se une a axones, sino que se une preferentemente al perineurio y, por tanto, puede ser menos probable que afecte a la conductividad nerviosa. Es este patrón de tinción el que lleva a creer que HNP401-FAM está uniendo proteína(s) estructural(es) en el perineurio. Los aminoácidos polares en el extremo C-terminal parecen ser necesario tanto para la solubilidad como para la unión ya que la eliminación o bien provocó que el péptido se volviera significativamente menos soluble o bien mostrara afinidad de unión disminuida a los nervios. La eliminación de 2 aminoácidos en el extremo N-terminal aumentó la unión a nervios, pero otras deleciones afectaron negativamente tanto a la solubilidad como a la unión. La unión de grupos solubilizantes como los PEG cortos puede restablecer la unión a variantes truncadas.

Para los estudios iniciales, los péptidos que resaltan los nervios HNP401 se han acoplado a un derivado de fluoresceína de longitud de onda bastante corta para hacerlo compatible con la obtención de imágenes de nervio/tumor dual con péptidos penetrantes de células activables ratiométricos Cy5/Cy7 que están actualmente en pruebas clínicas de fase II para la detección de cáncer (NCT03113825). Los colorantes de IR cercano o IR de longitud de onda más larga, tales como verde de indocianina (ICG), IRdye800, potencialmente permitirían obtener imágenes de los nervios más profundas por debajo de la superficie en el tejido expuesto quirúrgicamente después de la unión al HNP-401. La oxazina libre 4 también se ha usado recientemente para resaltar nervios en modelos preclínicos y la dirección podría potenciarse mediante el acoplamiento a péptidos dirigidos como HNP401. Aunque nuestro método de aplicación preferido es sistémico, la aplicación tópica es una opción con algunos procedimientos. Tal aplicación tópica de colorante a la superficie expuesta seguido de un lavado para eliminar el colorante no unido se ha usado para obtener imágenes de nervios en modelos animales [20]. También se han usado colorantes tales como 4-di-2-asp para la aplicación tópica a los nervios, pero tiene la desventaja de ser tóxicos para los nervios debido a su unión a mitocondrias en terminales nerviosos [35]. Los anticuerpos pueden aplicarse por vía intravenosa o tópica y tienen algunas ventajas incluyendo alta afinidad y una diana de unión definida, sin embargo, tal como se informa con el anticuerpo antigangliósido, requieren largos tiempos de circulación para la acumulación y lavado para desarrollar un contraste nervioso óptimo.

En estudios *in vivo* en roedores, se encontró que el nervio motor y sensorial periférico pueden marcarse en ratones a una dosis de 150 nmoles de FAM-NP41 que se escalaría fácilmente a la dosificación humana [36, 37]. El marcaje del nervio autonómico requeriría una dosis significativamente mayor en ratones (600 nmoles), por lo que pueden requerirse péptidos de afinidad más alta como HNP401 o variantes mejoradas para el avance a la dosificación clínica. Curiosamente, aunque se requeriría una dosificación más alta para visualizar el nervio autónomo muy pequeño en roedores (tan pequeño como 50 μm) el marcaje de nervios prostáticos humanos significativamente más grandes (~ 750 μm) puede lograrse a una dosis significativamente reducida. De acuerdo con la conclusión de que el nervio más grande puede resaltarse con una dosis más baja, los inventores fueron capaces de visualizar el nervio en la próstata de rata con una dosis del 40 % de NP41. Ni NP41 ni HNP401 se unen de manera permanente o covalente a haces nerviosos ya que ambos se lavan con poca señal restante después de 24 horas. Las proteínas estructurales que incluyen lamininas 421, 211 se han identificado como las dianas de unión para NP41 [25]. Aunque aún no se han determinado los datos de obtención de imágenes de las dianas de unión para HNP401 muestran un patrón de unión no axonal similar a NP41, lo que indica que también puede unirse a proteínas nerviosas estructurales. Una característica significativa de HNP401 en comparación con los colorantes lipófilos es que no requiere la presencia de mielina y se ha demostrado que puede unirse y resaltar el haz neurovascular, así como el nervio cavernoso dentro de la próstata. Estos nervios son importantes en aplicaciones urológicas y no tienen altos niveles de mielinización [29, 30]. Se anticipa que la conservación de los nervios en este contexto represente una de las necesidades clínicas no satisfechas más urgentes [38] para la tecnología de obtención de imágenes de nervios. La capacidad de FAM-HNP401 para resaltar estos nervios representa una ventaja significativa sobre los agentes de unión a nervios competitivos que son selectivos para mielina [39] e incorporan en axones [21].

Métodos

Síntesis de sondas

Se sintetizó FAM-NP41 tal como se describió previamente [22]. Se usó un sintetizador de péptidos Prelude y una síntesis de péptidos en fase sólida de Fmoc convencional para generar péptidos con la secuencia acetil-SGQVPWEEPYYYVKKSSGGC-CONH₂ [HNP401], acetil-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC-CONH₂ [HNP402], acetil-DLPDIWDFNWETAGGC-CONH₂ [HNP403], teniendo cada péptido un ligador "GGC" C-terminal. Se conjugó carboxifluoresceína con la cisteína C-terminal usando 5-fluoresceína-maleimida [Anaspec] en presencia de N-

metilmorfolina en DMSO. Los péptidos se purificaron en CL-EM de Agilent usando un Phenomenex 5µm C18 Luna con masa y pureza >95 % confirmada por CL-EM. Se sintetizaron y purificaron péptidos HNP401 truncados tal como se enumeran en (véase, por ejemplo, la figura 30) usando la misma configuración y método descritos anteriormente.

5 Animales

Se usaron ratones SKH1 macho de tipo natural (Charles River, Wilmington, MA) que pesaban 20-30 gramos para someter a prueba conjugados de colorante peptídico. Se usaron ratas macho Sprague-Dawley que pesaban de 100 a 250 gramos para la prueba *in vivo* de conjugados de colorante con la dosis ajustada basándose en el tamaño del animal. Los protocolos para el uso de animales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de California San Diego (protocolo número S05536).

Obtención de imágenes *in vivo*

Tras la anestesia con inyección intraperitoneal de ketamina (80 mg/kg) y midazolam (40 mg/kg), se administraron FAM-NP41 o sus variantes en ratones de manera retroorbital. Después de un periodo de lavado de 2-4 horas, los animales se anestesiaron con ketamina (50 mg/ml) y xilazina (20 mg/ml). La vejiga y la próstata se expusieron a través de una incisión abdominal en la línea media. Se obtuvieron imágenes del nervio autónomo a lo largo del vaso cavernoso en la próstata y se registraron usando un sistema de obtención de imágenes quirúrgico personalizado. Este sistema es un sistema modificado del alcance Olympus MVX10 capaz de fluorescencia de alta resolución, reflectancia RGB y superposición en tiempo real con zoom de desde 0,6 hasta 5,7 cm de campo de visión. Se usó ImageJ para el análisis cuantitativo del contraste nervioso para cada conjugado de péptido y colorante sometido a prueba. Se seleccionaron imágenes del nervio autónomo en la próstata de los archivos registrados y se ampliaron un 300-400 % antes de la selección de la ROI y la medición. Los nervios y las ROI de tejidos no nerviosos adyacentes se seleccionaron a mano usando una herramienta de selección poligonal en la misma ubicación tanto de imágenes de reflectancia como de fluorescencia. La media y desviación estándar de las intensidades de píxeles dentro de las áreas seleccionadas se compararon para los nervios (media = I_n , DE = σ_n) y tejido de fondo adyacente (media = I_b , DE = σ_b). El contraste de nervio a no nervio se calculó después de la sustracción de fondo con la fórmula $|I_n - I_b| / (\sigma_n^2 + \sigma_b^2)^{0.5}$. Para obtener imágenes de los nervios en la glándula prostática de ratas macho se inyectó de manera retroorbital conjugado de péptido colorante. Se inyectó FAM-HNP401 a una concentración de 13 mg/kg seguido de obtención de imágenes después de 15 minutos o, como alternativa, se usó una dosis de 52 mg/kg con obtención de imágenes después de 3 horas. La cirugía de animales vivos se realizó bajo un cóctel de ketamina-xilazina según el protocolo IACUC. Se usó una técnica estéril para exponer la próstata; la vejiga se drenó con una pequeña jeringa y se suturó. El campo quirúrgico se lavó con solución salina estéril antes de la obtención de imágenes. Se usó la prueba de Mann-Whitney para analizar los datos tanto para ratones como para ratas para comparar la intensidad nerviosa y el contraste nervioso con no nervioso entre la reflectancia de la luz blanca y la fluorescencia.

Parámetros de obtención de imágenes confocales

Se adquirieron datos confocales para la figura 17 con una línea láser de 488 nm, secciones de 10 µm en vidrio con un aumento de 10X, lente objetivo de aire de 0,45 NA. Ganancia fijada a 50, potencia fijada al 0,5 % de potencia láser, valor de permanencia de píxel de 1,2 µs, tamaño de abertura de 1,2 µm y un tamaño de píxel de 0,26 con una imagen de tamaño de 2k por 2k. Se usó la función Nyquist y se adquirieron imágenes como mosaicos para obtener la máxima resolución.

Se adquirieron datos para las figuras 19A y 19B con una línea láser de 488 nm, secciones de 10 µm en vidrio con un aumento de 10X, lente objetivo de aire de 0,45 NA. Ganancia fijada a 40, potencia fijada al 3 % de potencia láser, valor de permanencia de píxel de 1,2 µs, tamaño de abertura de 1,2 µm y un tamaño de píxel de 0,26 µm/px con una imagen de tamaño de 2k por 2k.

Se adquirieron datos para las figuras 19E y 19F con una línea láser de 488 nm, secciones de 10 µm en vidrio con un aumento de 10X, lente objetivo de aire de 0,45 NA. Ganancia fijada a 40, potencia fijada al 1 % de potencia láser, valor de permanencia de píxel de 1,2 µs, tamaño de abertura de 1,2 µm y un tamaño de píxel de 0,3 µm/px con una imagen de tamaño de 2k por 2k.

Se obtuvieron imágenes del anticuerpo de neurofilamentos SM1312 y la tinción con Dapi con un aumento de 10X, lente objetivo de aire de 0,45 NA, NA con una ganancia de 50, una potencia ajustada al 5 % de la potencia láser para una línea láser de 405 nm y una ganancia de 100, una potencia ajustada al 50 % de la potencia láser para una línea láser de 640 nm. Se usó un tiempo de permanencia de píxeles de 3,2 µs, un tamaño de abertura de 1,2 µm y un tamaño de imagen de 2k por 2k por mosaico, dando como resultado un tamaño de píxel de 0,29 µm/px.

Se adquirieron datos para la figura 26 con una línea láser de 488 nm, secciones de 10 µm en vidrio con un aumento de 10X, lente objetivo de aire de 0,45 NA. Ganancia fijada a 40, potencia fijada al 3 % de potencia láser, valor de permanencia de píxel de 2,4 µs, tamaño de abertura de 1,2 µm y un tamaño de píxel de 0,3 µm/px con una imagen

de tamaño de 2k por 2k.

Se adquirió el conjunto de datos de respuesta a la dosis de FAM-HNP401 en tejido nervioso humano (figuras 25: A-E) con una línea láser de 488 nm, secciones de 10 μm en vidrio con un aumento de 10X, lente objetivo de aire de 0,45 NA. Ganancia ajustada a 40, potencia ajustada al 3 % de potencia láser, valor de permanencia de píxel de 1,2 μs , tamaño de abertura de 1,1 μm y un tamaño de píxel de 0,3 $\mu\text{m}/\text{px}$ con una imagen de tamaño de 2k por 2k.

Se adquirieron datos para la figura 29 con una línea láser de 488 nm, secciones de 10 μm en vidrio con un aumento de 25X, lente de inmersión en agua de 1,10 NA. Ganancia fijada a 40, potencia fijada al 3 % de potencia láser, valor de permanencia de píxel de 2,2 μs , tamaño de abertura de 1,2 μm y un tamaño de píxel de 0,11 $\mu\text{m}/\text{px}$ con una imagen en mosaico de tamaño 2k por 2k.

Presentación en fagos

La presentación en fagos se realizó usando bibliotecas de fagos m13 sintetizadas personalizadas (diversidad $\sim 10^9$) que expresaban 16 aminoácidos aleatorios en el extremo N-terminal de gIII (Creative Biolabs). La biblioteca de fagos se procesó a través de selecciones para la unión a nervios humanos recién extirpados o congelados tal como se describe de manera similar para la identificación de NP41 que se une a nervios de ratón [22]. La biblioteca se procesó a través de hasta 6 ciclos de unión y lavado. Antes de la selección positiva, los fagos se sometieron a contraselección para el aglutinante de tejido muscular y graso de alta afinidad mediante la preabsorción de la biblioteca con estos tejidos. Para la selección positiva, las bibliotecas de fagos se mezclaron directamente con tejido nervioso dural humano y se incubaron durante hasta 2 horas a 4 °C. Después de la incubación, las mezclas de fagos tisulares se centrifugaron y se lavaron con PBS. Los sedimentos de tejido con fago unido se homogeneizaron después, se mezclaron con bacterias TG1 y se sembraron en placas de agar LB. Se contaron las colonias para determinar el título seguido de la selección de colonias individuales para la preparación y secuenciación del ADN. Después de cada ronda de selección, los fagos se reagruparon y se amplificaron para la selección iterativa. Los fagos que se agruparon en cada ronda se secuenciaron y se observaron repeticiones. Los fagos duplicados como se muestra en los resultados se identificaron después de 5 y 6 rondas de selección.

Aplicación tópica sobre secciones de tejido y obtención de imágenes

El nervio sural humano, el nervio antebrachial y el nervio laríngeo y el músculo temporal se obtuvieron según el protocolo IRB número 130837 para el Dr. Quyen Nguyen. Se obtuvieron nervios periféricos humanos (normalmente surales) de pacientes sometidos a procedimientos de resección de nervios. Los nervios humanos de la glándula prostática de dos pacientes se adquirieron con el protocolo de IRB de Biorepositorio del Centro de Cáncer de Moores número 090401. El tejido se seccionó y montó en portaobjetos de vidrio o cinta Cryojane. Se colocaron secciones de tejido en una cámara humidificadora durante 30 minutos antes de la aplicación de la disolución peptídica. Los péptidos se diluyeron a la concentración apropiada en HBSS.5X antes de la aplicación tópica. Se aplicaron 50 μl de disolución peptídica con concentración conocida (de 1 μM a 375 μM) a secciones de nervios de 10 μm en cinta o portaobjetos y se incubaron durante 30 minutos en una cámara humidificadora. Después de la incubación con péptidos, las secciones de nervios se lavaron dos veces con 0,5X HBSS y una vez con 1X PBS. Se aplicó un cubreobjetos y se tomaron imágenes de los portaobjetos inmediatamente en un microscopio confocal Zeiss Lumar de disección de Nikon A1. Para la obtención de imágenes confocales, se obtuvieron imágenes de secciones de tejido de 10 μm de grosor con excitación láser 515 (25) de 488 nm y un objetivo de aire 10X y un tamaño de 0,26 $\mu\text{m}/\text{píxel}$. Para la inmunohistoquímica, las imágenes confocales se adquirieron con un objetivo de aire 20X a 0,4 $\mu\text{m}/\text{píxel}$.

Análisis de imágenes

Se usó imageJ para analizar y comparar imágenes adquiridas usando el microscopio confocal y el alcance de disección de Lumar. Para cada conjunto experimental en el que se compararon las sondas, se mantuvieron los parámetros de adquisición idénticos para comparar directamente los datos obtenidos. Durante el experimento, está claro que FAM-HNP401 tenía la señal más clara en los experimentos de aplicación tópica. Todos los archivos de imagen sin procesar para una cohorte experimental dada se cargaron al mismo tiempo en imageJ como imágenes de tiff de 16 bits. A continuación, se niveló la imagen para el tejido tratado con FAM-HNP401. Una vez que se establecieron estos niveles, los ajustes se propagan a todas las imágenes en una etapa usando imageJ. La imagen más clara se establece como el punto de referencia para todas las demás imágenes en la cohorte para evitar la saturación cuando se propaga la nivelación. Para cuantificar las imágenes, se dibujaron regiones de interés (ROI) y se midieron los recuentos de señales en imageJ. Para la figura 5, aunque FAM-HNP401-N-2 es el más claro, por uniformidad se eligió FAM-HNP401 para nivelar y normalizar los recuentos de señales.

Inmunofluorescencia de nervios autónomos de próstata de rata

Se tomó tejido nervioso sospechoso no mielinizado de la glándula prostática de ratas macho después de la inyección intravenosa *in vivo* de TAMRA-NP41 (0,5 μmoles o 11,3 mg/kg para ratas de 100 g) visualizada en un

sistema quirúrgico de obtención de imágenes por fluorescencia personalizado basado en un microscopio de disección de Olympus. Se generaron criosecciones de 5 µm del tejido usando un criostato Leica y se montaron en cinta Cryojane. Las secciones de tejido se fijaron durante 10 min con para-formaldehído al 4 % en PBS 1X seguido de un aclarado con PBS 1X. Se aplicó una dilución 1:2000 de anticuerpo monoclonal contra TAMRA [ThermoFisher Scientific, n.º de cat. MA1-041] (o anticuerpo policlonal contra tirosina hidroxilasa [Cell Signaling Technologies Prod. n.º de cat. 2792S]) en suero de cabra al 10 % en PBS; 20 µl por sección y se incubó durante la noche a temperatura ambiente seguido de un lavado con PBS 1X. Se aplicó una dilución 1:500 de anticuerpo secundario anti-IgG de ratón biotinilado en suero de cabra al 10 % en PBS a secciones durante 2 horas seguido de un lavado con PBS 1X. Se aplicó el vector RTU (complejo de avidina-biotina) o estreptavidina Alexa 405 durante 1 hora seguido de un lavado con PBS 1X. El tejido se montó en húmedo en portaobjetos con PBS 1X. La imagen confocal se adquirió con un objetivo de aire de 20 x a una resolución de 0,4 µm/píxel.

Inmunofluorescencia para neurofilamentos

Se obtuvo tejido de nervios humanos viable en fresco a partir de prostatectomía y se congeló en bloques de OCT. Se montaron criosecciones de tejido de 10 µm en portaobjetos de vidrio True Bond. Se aplicó una pluma de barrera hidrófoba al vidrio alrededor de cada sección. Las secciones de tejido se fijaron usando paraformaldehído al 2 % preparado en PBS 1X y se lavaron 4 veces con PBS 1X. Se aplicaron 100 µl de tampón de bloqueo (disolución de Triton X al 0,01 %, TFA al 1 % en suero de cabra normal al 10 % [Life technologies 50062Z]) durante 30 min a cada sección de tejido. El tejido se lavó después 4 veces con 1X PBS y se aplicó una dilución 1:1000 de anticuerpo de neurofilamentos SMI312 [Biolegend, n.º de cat. 837904] al tejido para incubación durante la noche a 4 °C. El tejido se lavó 6 veces con PBST. Se aplicó una dilución 1:1000 de anticuerpo secundario anti-IgG de ratón marcado con Alexafluor 555 a las secciones durante 2 horas a 4 °C seguido de lavado con PBS 1X. Se añadió reactivo antidecoloración Prolong Gold con DAPI [Life Technologies P36931] antes de colocar en cubreobjetos y la obtención de imágenes.

Protocolo de tinción con H&E

Las secciones de tejido se fijaron durante 1 minuto en formaldehído tamponado/10 % 1:1 y etanol de prueba 200. Los portaobjetos se lavaron después con agua y se sumergieron en tinción con hematoxilina durante 2 minutos. Los portaobjetos se lavaron después con agua destilada y se sumergieron en disolución de azulado durante 30 segundos. Los portaobjetos se lavaron con agua destilada y se sumergieron en disolución de eosina durante 1 minuto seguido de lavado con agua destilada. Los portaobjetos se sumergieron secuencialmente en etanol al 50 %, al 95 % y al 100 % para eliminar el agua. Los portaobjetos se secaron al aire y se sumergieron en citrisolv antes de montar un cubreobjetos con solución de montaje sin xileno y se obtuvieron imágenes en un instrumento NanoZoomer de Hamamatsu usando campo claro a 20 aumentos.

Eliminación por aclaramiento en sangre para HNP401-FAM

Se inyectaron cinco ratones macho SKH de 8 semanas de edad por vía intravenosa con 100 nmol [10,75 mg/kg para ratones de 25 g] de FAM-HNP401 en 100 µl de agua estéril. Antes de extraer sangre, los ratones se anestesiaron con un cóctel 1:1 de ketamina:midazolam. Se realizaron pinchazos en la cola 1 min, 10 min, 20 min, 30 min, 1 h y 2 h después de la inyección para recoger 5 µl de sangre completa que se disolvió en 100 µl de tampón de ajuste de ICP-EM de Agilent. Las muestras se centrifugaron y se analizó un volumen igual de sobrenadantes usando un lector de placas de fluorescencia de Tecan.

Bibliografía

[1] Borsook D, Kussman BD, George E, Becerra LR, Burke DW. Surgically induced neuropathic pain: understanding the perioperative process. *Annals of surgery*. 2013;257:403-12.

[2] D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, *et al*. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *Jama*. 1998;280:969-74.

[3] Walsh PC. Radical prostatectomy for localized prostate cancer provides durable cancer control with excellent quality of life: a structured debate. *The Journal of urology*. 2000;163:1802-7.

[4] Yamashita S, Kato R, Kobayashi K, Hisasue Si, Arai Y, Tsukamoto T. Nerve injury-related erectile dysfunction following nerve-sparing radical prostatectomy: A novel experimental dissection model. *International journal of urology*. 2009;16:905-11.

[5] Stanford JL, Feng Z, Hamilton AS, Gilliland FD, Stephenson RA, Eley JW, *et al*. Urinary and sexual function after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: the Prostate Cancer Outcomes Study. *Jama*. 2000;283:354-60.

[6] Walsh PC. Anatomic radical prostatectomy: evolution of the surgical technique. *The Journal of urology*. 1998;160:2418-24.

[7] Tewari A, Peabody JO, Fischer M, Sarle R, Vallancien G, Delmas V, *et al.* An operative and anatomic study to help in nerve sparing during laparoscopic and robotic radical prostatectomy. *European urology*. 2003;43:444-54.

[8] Nandipati KC, Raina R, Agarwal A, Zippe CD. Nerve-sparing surgery significantly affects long-term continence after radical prostatectomy. *Urology*. 2007;70:1127-30.

[9] Koehler N, Holze S, Gansera L, Rebmann U, Roth S, Scholz HJ, *et al.* Erectile dysfunction after radical prostatectomy: the impact of nerve-sparing status and surgical approach. *International journal of impotence research*. 2012;24:155-60.

[10] Nelson CJ, Scardino PT, Eastham JA, Mulhall JP. Back to Baseline: Erectile Function Recovery after Radical Prostatectomy from the Patients' Perspective. *The journal of sexual medicine*. 2013.

[11] O'Malley MR, Wittkopf JE, Cutler JL, Labadie RF, Hackett TA, Haynes DS. Fluorescent retrograde axonal tracing of the facial nerve. *The Laryngoscope*. 2006;116:1792-7.

[12] Marangos N, Illing R-B, Krüger J, Laszig R. In vivo visualization of the cochlear nerve and nuclei with fluorescent axonal tracers. *Hearing research*. 2001;162:48-52.

[13] De Proost I, Pintelon I, Brouns I, Timmermans J-P, Adriaensen D. Selective visualisation of sensory receptors in the smooth muscle layer of ex-vivo airway whole-mounts by styryl pyridinium dyes. *Cell and tissue research*. 2007;329:421-31.

[14] Naskar R, Wissing M, Thanos S. Detection of early neuron degeneration and accompanying microglial responses in the retina of a rat model of glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2002;43:2962-8.

[15] Papworth GD, Delaney PM, Bussau U, Vo LT, King RG. In vivo fibre optic confocal imaging of microvasculature and nerves in the rat vas deferens and colon. *Journal of anatomy*. 1998;192:489-95.

[16] Gibbs-Strauss SL, Nasr KA, Fish KM, Khullar O, Ashitate Y, Siclovan TM, *et al.* Nerve-highlighting fluorescent contrast agents for image-guided surgery. *Molecular imaging*. 2011;10:7290-2010.

[17] Cotero VE, Kimm SY, Siclovan TM, Zhang R, Kim EM, Matsumoto K, *et al.* Improved intraoperative visualization of nerves through a myelin-binding fluorophore and dual-mode laparoscopic imaging. *PloS one*. 2015;10:e0130276.

[18] Stankoff B, Wang Y, Bottlaender M, Aigrot M-S, Dolle F, Wu C, *et al.* Imaging of CNS myelin by positron-emission tomography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103:9304-9.

[19] Park MH, Hyun H, Ashitate Y, Wada H, Park G, Lee JH, *et al.* Prototype nerve-specific near-infrared fluorophores. 2014.

[20] Barth CW, Gibbs SL. Direct Administration of Nerve-Specific Contrast to Improve Nerve Sparing Radical Prostatectomy. *Theranostics*. 2017;7:573-93.

[21] Massaad CA, Zhang G, Pillai L, Azhdarinia A, Liu W, Sheikh KA. Fluorescently-tagged anti-ganglioside antibody selectively identifies peripheral nerve in living animals. *Scientific reports*. 2015;5:15766.

[22] Whitney MA, Crisp JL, Nguyen LT, Friedman B, Gross LA, Steinbach P, *et al.* Fluorescent peptides highlight peripheral nerves during surgery in mice. *Nature biotechnology*. 2011;29:352-6.

[23] Wu AP, Whitney MA, Crisp JL, Friedman B, Tsien RY, Nguyen QT. Improved facial nerve identification with novel fluorescently labeled probe. *The Laryngoscope*. 2011;121:805-10.

[24] Hussain T, Mastrodimos MB, Raju SC, Glasgow HL, Whitney M, Friedman B, *et al.* Fluorescently labeled peptide increases identification of degenerated facial nerve branches during surgery and improves functional outcome. *PloS one*. 2015;10:e0119600.

[25] Glasgow HL, Whitney MA, Gross LA, Friedman B, Adams SR, Crisp JL, *et al.* Laminin targeting of a peripheral nerve-highlighting peptide enables degenerated nerve visualization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113:12774-9.

[26] Köbbert C, Apps R, Bechmann I, Lanciego JL, Mey J, Thanos S. Current concepts in neuroanatomical tracing.

Progress in neurobiology. 2000;62:327-51.

[27] Richmond FJR, Gladdy R, Creasy JL, Kitamura S, Smits E, Thomson DB. Efficacy of seven retrograde tracers, compared in multiple-labelling studies of feline motoneurons. *Journal of neuroscience methods*. 1994;53:35-46.

[28] Davila HH, Mamcarz M, Nadelhaft I, Salup R, Lockhart J, Carrion RE. Visualization of the neurovascular bundles and major pelvic ganglion with fluorescent tracers after penile injection in the rat. *BJU international*. 2008;101:1048-51.

[29] Schaumburg HH, Zotova E, Cannella B, Raine CS, Arezzo J, Tar M, *et al*. Structural and functional investigations of the murine cavernosal nerve: a model system for serial spatiotemporal study of autonomic neuropathy. *BJU international*. 2007;99:916-24.

[30] Karam I, Droupy S, Abd-Alsamad I, Korbage A, Uhl J-F, Benoît G, *et al*. The precise location and nature of the nerves to the male human urethra: histological and immunohistochemical studies with three-dimensional reconstruction. *European urology*. 2005;48:858-64.

[31] Liu W, Gu R, Zhu Q, Xiao C, Huang L, Zhuang X, *et al*. Rapid fluorescence imaging of spinal cord following epidural administration of a nerve-highlighting fluorophore. *Theranostics*. 2017;7:1863-74.

[32] Descotes J. Immunotoxicity of monoclonal antibodies. 2 ed: Taylor & Francis. págs. 104-11.

[33] Chames P, Van Regenmortel M, Weiss E, Baty D. Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future. *British journal of pharmacology*. 2009;157:220-33.

[34] Lim TKY, Shi XQ, Johnson JM, Rone MB, Antel JP, David S, *et al*. Peripheral nerve injury induces persistent vascular dysfunction and endoneurial hypoxia, contributing to the genesis of neuropathic pain. *Journal of Neuroscience*. 2015;35:3346-59.

[35] Marques MJ, Santo Neto H. Imaging neuromuscular junctions by confocal fluorescence microscopy: individual endplates seen in whole muscles with vital intracellular staining of the nerve terminals. *The Journal of Anatomy*. 1998;192:425-30.

[36] Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *Journal of Clinical Investigation*. 1960;39:592.

[37] Marshall MV, Rasmussen JC, Tan IC, Aldrich MB, Adams KE, Wang X, *et al*. Near-infrared fluorescence imaging in humans with indocyanine green: a review and update. *Open surgical oncology journal (Online)*. 2010;2:12.

[38] Guillonnet B. Neurological and vascular preservation during laparoscopic radical prostatectomy. *Progres en urologie: journal de l'Association francaise d'urologie et de la Societe francaise d'urologie*. 2009;19:S180-2.

[39] Wang C, Wu C, Zhu J, Miller RH, Wang Y. Design, synthesis, and evaluation of coumarin-based molecular probes for imaging of myelination. *Journal of medicinal chemistry*. 2011;54:2331-40.

Los ejemplos expuestos anteriormente se proporcionan para dar a los expertos habituales en la técnica una divulgación y descripción completas de cómo elaborar y usar las realizaciones de las composiciones, los sistemas y los métodos de la divulgación. Modificaciones de los modos descritos anteriormente para llevar a cabo la divulgación son evidentes para los expertos en la técnica. Todas las patentes y publicaciones mencionadas en la memoria descripta son indicativas de los niveles de destreza de los expertos en la técnica a la que pertenece la divulgación.

Todos los encabezados y designaciones de sección se usan sólo con fines de claridad y referencia. Por ejemplo, los expertos en la técnica apreciarán la utilidad de combinar diversos aspectos de diferentes encabezados y secciones según sea apropiado.

Pueden realizarse muchas modificaciones y variaciones de esta solicitud. Las realizaciones específicas y los ejemplos descritos en el presente documento se ofrecen a modo de ejemplo.

REIVINDICACIONES

1. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos que se une específicamente a una neurona o nervio humanos, o a un componente de cualquiera de ellos, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23), PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24), SGQVPWEEPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPYYVVKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPYYVGG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPYYGG (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), y SGQVPWEEPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124).
2. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 1, que comprende además una carga, en donde opcionalmente:
 - (a) la carga comprende un fármaco;
 - (b) la carga comprende un fármaco seleccionado del grupo que consiste en: un antihistamínico, un modulador del receptor GABA, un inhibidor de la recaptación de neurotransmisores, un anestésico local, un anticolinérgico, un bloqueador de los canales de sodio, un bloqueador de los canales de calcio, una hormona liberadora de tirotropina, un inhibidor de γ -secretasa, un agonista o antagonista del receptor AMPA, un agonista o antagonista del receptor NMDA, un agonista o antagonista del receptor mGlu, un factor de crecimiento, un agente antiemético, un corticosteroide, un agente citotóxico, un antioxidante, un quelante de hierro, un modulador mitocondrial, un modulador de sirtuína, un modulador de óxido nítrico (NO) y/u óxido nítrico sintasa (NOS), un agonista o antagonista de los canales de potasio, un agonista o antagonista de los receptores purinérgicos, y combinaciones de los mismos;
 - (c) la carga comprende un fármaco seleccionado del grupo que consiste en: benzocaína; carticaína; cincocaína; ciclométicaína; lidocaína; prilocaína; propixicaína; proparacaína; tetracaína; tocinida; y trimecaína; metotrexato; ciclofosfamida; talidomida; paclitaxel; pemetrexed; pentostatina; pipobromán; pixantrona; plicamicina; platonina; procarbazona; raltitrexed; rebecamicina; rubitecán; SN-38; salinosporamida A; satraplatino; estreptozotocina; swainsonina; tariquidar; taxano; tegafur-uracilo; temozolomida; testolactona; tioTEPA; tioguanina; topotecán; trabectedina; tretinoína; tetranitrato de triplatino; tris(2-cloroetil)amina; troxacitabina; mostaza de uracilo; valrubicina; vinblastina; vincristina; vinorelbina; vorinostat; zosuquidar; carbamazepina; oxcarbazepina; feniteína; ácido valproico; valproato de sodio; cinarizina; flunarizina; nimodipina; factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF); neurotrofina-3; neurotrofina-4; receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); factor de crecimiento similar a insulina (IGF); y combinaciones de los mismos;
 - (d) la carga comprende un resto fluorescente;
 - (e) la carga comprende un resto fluorescente seleccionado del grupo que consiste en: una proteína fluorescente, un péptido fluorescente, un colorante fluorescente, y combinaciones de los mismos;
 - (f) la carga comprende un resto fluorescente seleccionado del grupo que consiste en: un xanteno; un bimano; una cumarina; una amina aromática; un benzofurano; una cianina fluorescente; un carbazol; un dicianometilpirano; polimetina; oxabenzantrano; pirilio; carbostilo; perileno; acridona; quinacridona; rubreno; antraceno; coroneno; fenantreceno; pireno; butadieno; estilbeno; porfirina; ftalocianina; complejos de lantánido-quelato metálico; complejos de quelatos de metales de tierras raras; y derivados de los mismos;

(g) la carga comprende un resto fluorescente seleccionado del grupo que consiste en: 5-carboxifluoresceína; fluoresceína-5-isotiocianato; 6-carboxifluoresceína; tetrametilrodamina-6-isotiocianato; 5-carboxitetrametilrodamina; derivados de rodol de 5-carboxilo; tetrametil y tetraetilrodamina; difenildimetil y difenildietilrodamina; dinaftilrodamina; cloruro de sulfonilo 101 de rodamina; Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7, verde de indocianina, IR800CW, proteína fluorescente cian (CFP), EGFP, 6-FAM, FAM, fluoresceína, 5,6-dicarboxifluoresceína, 5-(y 6)-sulfofluoresceína, sulfonafluoresceína, fluoresceína de succinilo, 5-(y 6)-carboxilo SNARF-1, sulfonato de carboxifluoresceína, zwitterión de carboxifluoresceína, amonio cuaternario de carboxifluoresceína, fosfonato de carboxifluoresceína, carboxifluoresceína GABA, carboxifluoresceína-cys-Cy5, 5'(6')-carboxifluoresceína, glutatión fluoresceína, y combinaciones de los mismos;

(h) la carga comprende un agente fotosensibilizante;

(i) la carga comprende un agente fotosensibilizante seleccionado del grupo consiste en: una porfirina, clorina, y colorante; o

(j) la carga comprende un agente fotosensibilizante seleccionado del grupo consiste en: porfirina, protoporfina IX, puritina, verteporfina, HPPH, temoporfina, azul de metileno, fotofrina, protofrina, hematoporfirina, talaporfina, monoácido derivado de benzoporfirina, ácido 5-aminoleuvulínico, texapirina de luteo, metaloftalocianina, metalo-naftocianinasulfobenzo-porfirazina, metalo-naftalocianinas, tetrasulftalocianina de zinc, bacterioclorinas, metaloclorinas, derivado de cloro, tetra(*m*-hidroxifenil)clorina (*m*THPC), feoforbida, dibromofluoresceína (DBF), IR700DX, naftalocianina, y derivados de porfirina.

3. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 2, en donde la carga se une al extremo N-terminal o al extremo C-terminal del péptido.

4. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según una cualquiera de las reivindicaciones 2 ó 3, en donde la carga se une al péptido mediante un ligador, opcionalmente en donde el ligador es un ligador de carbono de cadena lineal o ramificada, ligador de carbono heterocíclico, ligador de aminoácido, residuo lipófilo, ligador de péptido, ligador de ácido nucleico peptídico, ligador de hidrazona, disulfuro de SPDB, sulfo-SPDB, ciclohexano-1-carboxilato de maleimidometilo (MCC), ligador de ácido aminohexanoico, ligador de poliéter, o ligador de polietilenglicol.

5. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 1, que comprende: 5FAM-QVPWEEPYYVVKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 104), Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 105), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC-5FAM (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 106), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC-5FAM (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 107), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 108), Ac-PWEEPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 109), Ac-EEPYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 110), Ac-PYYVVKSSGGC-5FAM (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 111), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC-5FAM (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 112), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC-5FAM (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 113), Ac-SGQVPWEEPYYGGC-5FAM (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 114), o Ac-SGQVPWEEPGGC-5FAM (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 115).

6. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios multidominio que comprende dos o más péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios, en donde los dos o más péptidos de direccionamiento a neuronas o nervios se unen a una neurona o nervio humanos, o a un componente de cualquiera de ellos, en donde el primer péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPYYVVKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPYYVGGC (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPYYVVKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), SGQVPWEEP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPYYVVKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120),

SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKKSSGG-NH₂ (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104); y

opcionalmente en donde el segundo péptido se selecciona del grupo que consiste en: SGQVPWEEPPYYVVKKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), WEYHYVDLNWTSQHPQ (HNP 402; SEQ ID NO: 2), DLPDIWDFNWETA (HNP 403; SEQ ID NO: 3), DTHAHAKPRVPAFKSV (HNP 404; SEQ ID NO: 16), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401 con ligador GGC; SEQ ID NO: 4), Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (HNP402 con ligador GGC; SEQ ID NO: 5), Ac-DLPDIWDFNWETAGGC (HNP403 con ligador GGC; SEQ ID NO: 6), Ac-QVPWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-PWEEPPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 8), Ac-EEPYYVVKKSSGGC (HNP401-N-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 9), Ac-PYYVVKKSSGGC (HNP401-N-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 10), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKKGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), Ac-SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GGC; SEQ ID NO: 12), Ac-SGQVPWEEPPYYGGC (HNP401-C-6 con ligador GGC; SEQ ID NO: 13), Ac-SGQVPWEEPPGGC (HNP401-C-8 con ligador GGC; SEQ ID NO: 14), QVPWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20); QVPWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21); PWEEPPYYVVKKSS (HNP401-N-4; SEQ ID NO: 22); EEPYYVVKKSS (HNP401-N-6; SEQ ID NO: 23); PYYVVKKSS (HNP401-N-8; SEQ ID NO: 24); SGQVPWEEPPYYVVKK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25), SGQVPWEEPPYYV (HNP401-C-4; SEQ ID NO: 26), SGQVPWEEPPYY (HNP401-C-6; SEQ ID NO: 27), y SGQVPWEEPP (HNP401-C-8; SEQ ID NO: 28), PWEEPPYYVVKKSSGG (HNP401-N-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 118), EEPYYVVKKSSGG (HNP401-N-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 119), PYYVVKKSSGG (HNP401-N-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 120), SGQVPWEEPPYYVVKKGG (HNP401-C-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 121), SGQVPWEEPPYYVVG (HNP401-C-4 con ligador GG; SEQ ID NO: 122), SGQVPWEEPPYYGG, (HNP401-C-6 con ligador GG; SEQ ID NO: 123), SGQVPWEEPPGG (HNP401-C-8 con ligador GG; SEQ ID NO: 124), SHSSEFPRSWDMETN (HNP301; SEQ ID NO: 29); SHSMLPSVLD (HNP303; SEQ ID NO: 30); SHSTMKTLSL (HNP305; SEQ ID NO: 31); VAPTKAPLHSPS (NP121; SEQ ID NO: 32), NNLKTGTSAPTG (NP122; SEQ ID NO: 33), HKTAQWPFIAR (NP123; SEQ ID NO: 34), RLTNAPAYQAPA (NP124; SEQ ID NO: 35), MQNPLNGKPGR (NP125; SEQ ID NO: 36), THYSRSLTDGTR (NP126; SEQ ID NO: 37), YPSPNRPPNLTN (NP127; SEQ ID NO: 38), y NTQTLAKAPEHTG (NP117; SEQ ID NO: 39); y

opcionalmente en donde el primer péptido y el segundo péptido son iguales o diferentes.

7. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios multidominio según la reivindicación 6, que comprende además una carga seleccionada del grupo que consiste en un fármaco, resto fluorescente, y agente fotosensibilizante, opcionalmente en donde el primer péptido y segundo péptido se unen mediante un ligador o mediante la carga.

8. Molécula de direccionamiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2 d) a g) para su uso en un método para identificar una neurona o nervio humanos, que comprende poner en contacto la neurona o nervio humanos con dicha molécula de direccionamiento, en donde la carga comprende un resto fluorescente, opcionalmente en donde:

(a) el resto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en: una proteína fluorescente, un péptido fluorescente, un colorante fluorescente, y combinaciones de los mismos;

(b) el resto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en: un xanteno; un bimano; una cumarina; una amina aromática; un benzofurano; una cianina fluorescente; un carbazol; un dicianometilpirano; polimetina; oxabenzantrano; pirilio; carbostilo; perileno; acridona; quinacridona; rubreno; antraceno; coroneno; fenantreno; pireno; butadieno; estilbeno; porfirina; ftalocianina; complejos de lantánido-quelato metálico; complejos de quelatos de metales de tierras raras; y derivados de los mismos; o

(c) el resto fluorescente se selecciona del grupo que consiste en: 5-carboxifluoresceína; fluoresceína-5-isotiocianato; 6-carboxifluoresceína; tetrametilrodamina-6-isotiocianato; 5-carboxitetrametilrodamina; derivados de rodol de 5-carboxilo; tetrametil y tetraetilrodamina; difenildimetil y difenildietilrodamina; dinaftilrodamina; cloruro de sulfonilo 101 de rodamina; Cy3, Cy3B, Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy7, verde de indocianina, IR800CW, proteína fluorescente cian (CFP), EGFP, 6-FAM, FAM, fluoresceína, 5,6-dicarboxifluoresceína, 5-(y 6)-sulfofluoresceína, sulfonafluoresceína, fluoresceína de succinilo, 5-(y 6)-carboxilo SNARF-1, sulfonato de carboxifluoresceína, zwitterión de carboxifluoresceína, amonio cuaternario de carboxifluoresceína, fosfonato de carboxifluoresceína, carboxifluoresceína GABA, carboxifluoresceína-cys-Cy5, 5'(6')-carboxifluoresceína, glutatión fluoresceína, y combinaciones de los mismos.

9. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a) a c) para su uso en un método para administrar un fármaco a una neurona o nervio humanos, que comprende poner en contacto la neurona o nervio humanos con dicha molécula de direccionamiento a

neuronas o nervios humanos, en donde la carga comprende un fármaco, opcionalmente en donde:

(a) el fármaco se selecciona del grupo que consiste en: un antihistamínico, un modulador del receptor GABA, un inhibidor de la recaptación de neurotransmisores, un anestésico local, un anticolinérgico, un bloqueador de los canales de sodio, un bloqueador de los canales de calcio, una hormona liberadora de tiotropina, un inhibidor de γ -secretasa, un agonista o antagonista del receptor AMPA, un agonista o antagonista del receptor NMDA, un agonista o antagonista del receptor mGlu, un factor de crecimiento, un agente antiemético, un corticosteroide; un agente citotóxico; un antioxidante, un quelante de hierro, un modulador mitocondrial, un modulador de sirtuina, un modulador de óxido nítrico (NO) y/u óxido nítrico sintasa (NOS), un agonista o antagonista de los canales de potasio, un agonista o antagonista de los receptores purinérgicos, y combinaciones de los mismos; o

(b) el fármaco se selecciona del grupo que consiste en: benzocaína; carticaína; cincocaína; ciclometacaína; lidocaína; prilocaína; propoxicaína; proparacaína; tetracaína; tocaína; y trimecaína; metotrexato; ciclofosfamida; talidomida; paclitaxel; pemetrexed; pentostatina; pipobromán; pixantrona; plicamicina; platonina; procarbazona; raltitrexed; rebecamicina; rubitecán; SN-38; salinosporamida A; satraplatino; estreptozotocina; swainsonina; tariquidar; taxano; tegafur-uracilo; temozolomida; testolactona; tioTEPA; tioguanina; topotecán; trabectedina; tretinoína; tetranitrato de triplatino; tris(2-cloroetil)amina; troxacitabina; mostaza de uracilo; valrubicina; vinblastina; vincristina; vinorelbina; vorinostat; zosuquidar; carbamazepina; oxcarbazepina; feniteína; ácido valproico; valproato de sodio; cinarizina; flunarizina; nimodipina; factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF); factor neurotrófico ciliar (CNTF); factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF); neurotrofina-3; neurotrofina-4; receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); factor de crecimiento similar a insulina (IGF); y combinaciones de los mismos.

10. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según una cualquiera de las reivindicaciones 2 h) a j) para su uso en un método para administrar un agente fotosensibilizante a una neurona o nervio humanos, que comprende poner en contacto la neurona o nervio humanos con dicha molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos, en donde la carga es un agente fotosensibilizante, opcionalmente en donde:

(a) el agente fotosensibilizante se selecciona del grupo que consiste en: una porfirina, clorina, y colorante; o

(b) el agente fotosensibilizante se selecciona del grupo que consiste en: porfirina, protoporfina IX, purlitina, verteporfina, HPPH, temoporfina, azul de metileno, fotofrina, protofrina, hematoporfirina, talaporfina, monoácido derivado de benzoporfirina, ácido 5-aminolevulínico, texapirina de lutecio, metalofthalocianina, metalonaftocianinasulfobenzoporfirina, metalo-naftalocianinas, tetrasulfotthalocianina de zinc, bacterioclorinas, metaloclorinas, derivado de cloro, tetra(*m*-hidroxifenil)clorina (*m*THPC), feoforbida, dibromofluoresceína (DBF), IR700DX, naftalocianina, y derivados de porfirina.

11. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso según la reivindicación 10, que comprende además exponer la neurona o nervio humanos a una fuente de luz que activa el agente fotosensibilizante, en donde la neurona o nervio humanos se somete a ablación mediante el agente fotosensibilizante activado.

12. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde dicha molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos se administra mediante inyección intravenosa sistémica de un sujeto humano.

13. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 8-12, en donde dicha molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos se administra a un sujeto humano antes de un procedimiento quirúrgico

opcionalmente en donde dicho procedimiento quirúrgico es un procedimiento quirúrgico de un cáncer, opcionalmente en donde el procedimiento quirúrgico es un procedimiento quirúrgico de cáncer de próstata.

14. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 1, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en:

SGQVPWEEPPYYVVKSS (HNP 401; SEQ ID NO: 1), Ac-QVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-N-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 7), Ac-SGQVPWEEPPYYVVKSSGGC (HNP401-C-2 con ligador GGC; SEQ ID NO: 11), QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21), y SGQVPWEEPPYYVVK (HNP401-C-2; SEQ ID NO: 25).

15. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 1, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en QVPWEEPPYYVVKSS (HNP401-N-2; SEQ ID NO: 20), QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con

ligador GG; SEQ ID NO: 21) y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).

- 5 16. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 1, en donde dicha molécula de direccionamiento comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en QVPWEEPPYYVVKSSGG (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 21) y 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).
- 10 17. Molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según la reivindicación 1, en donde dicha molécula de direccionamiento es 5FAM-QVPWEEPPYYVVKSSGG-NH2 (HNP401-N-2 con ligador GG; SEQ ID NO: 104).
- 15 18. Composición farmacéutica que comprende: (a) la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios humanos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 ó 14-17, o la molécula de direccionamiento a neuronas o nervios multidominio según la reivindicación 6 ó 7, y (b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Figura 1

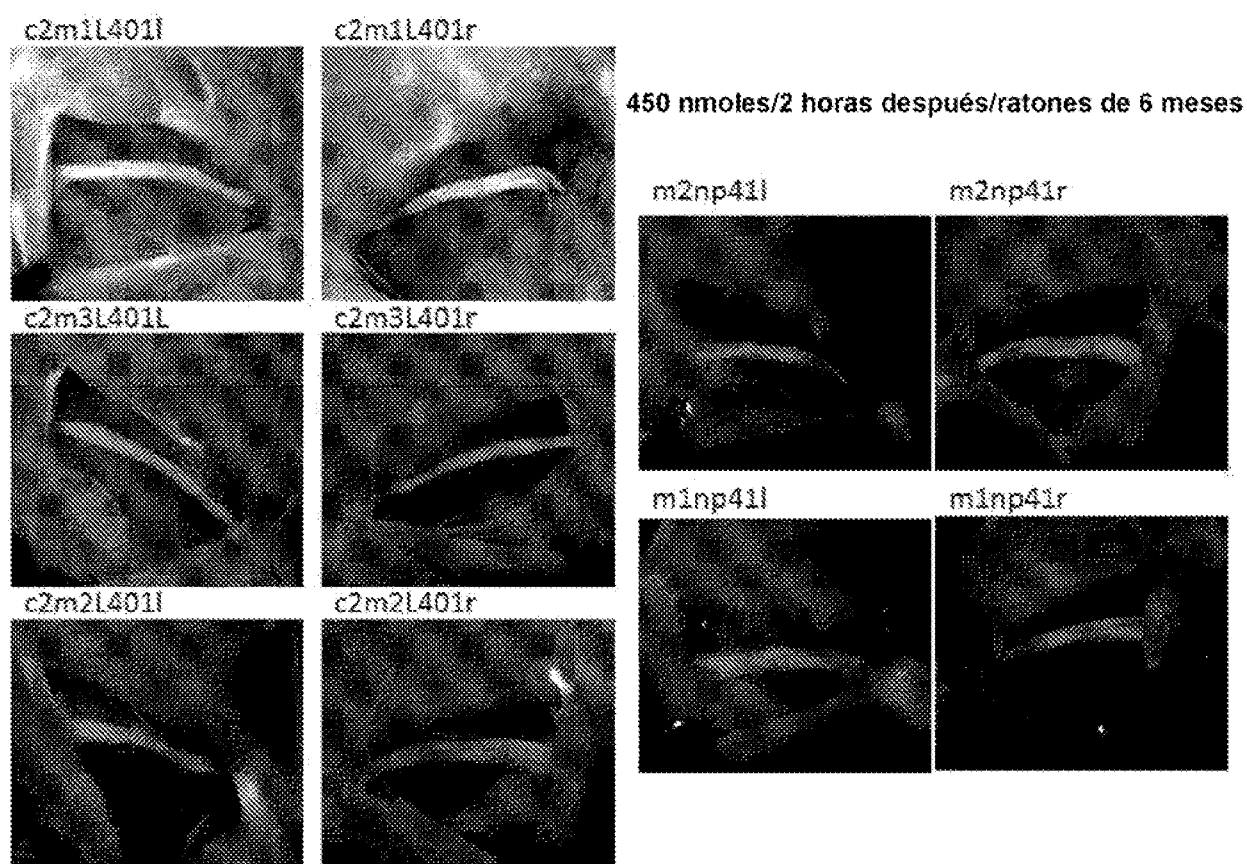


Figura 2

Comparación cuantitativa de HNP401 con respecto a NP41 *in vivo*

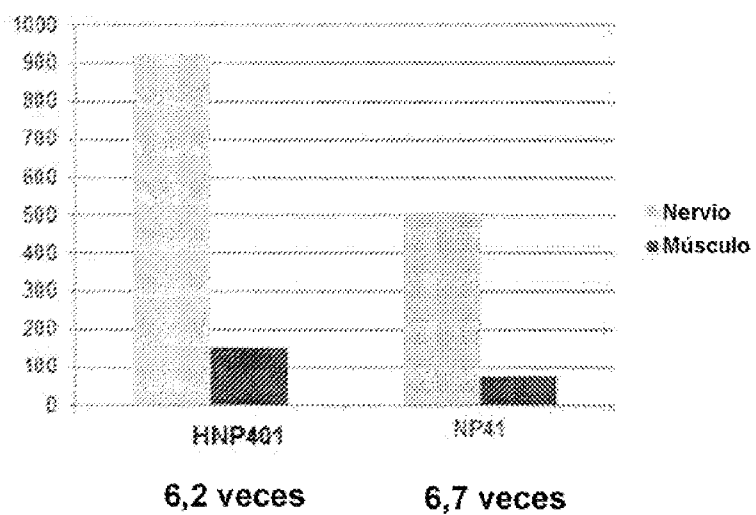


Figura 3

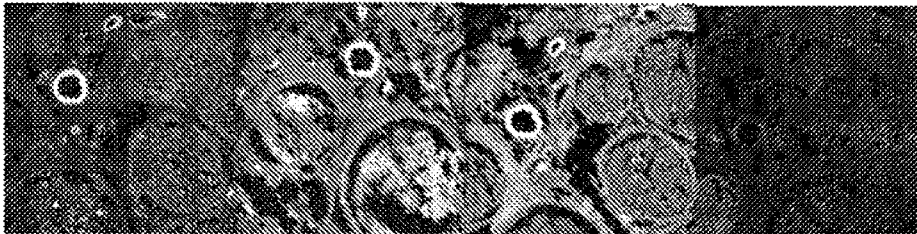
Recopilación de diversos péptidos de unión a nervios en secciones de nervios humanos:

HNP-401 es el más claro, pero similar a NP-124 (alta tinción de fondo)

Carboxifluoresceína HNP-401* HNP-402* HNP-404



NP-41 NP-124 NP-713 HNP-301



Carboxifluoresceína D-np-41 D-np-713



* = Ganancia 10,
todos los demás
ganancia = 30
Por lo demás,
la escala es la
misma

Secciones recientes
de nervios humanos.
Péptidos tratados
en secciones secas de
10 µm, a 300 µm en 0,5x
HBSS excepto HNP402
que estaba en 0,06xHBSS/
agua a temperatura
ambiente durante
20-25 minutos en una
cámara humidificadora.
Se lavaron en PBS y
se obtuvieron imágenes
en un dispositivo confocal
Nikon con un láser de
488 nm y un objetivo
25x (4x4 fseelas),
a escala 10 en
photoshop

Figura 4

Comparación de NP41, HNP401 y HNP41 que se unen a secciones de nervio humano en un nivelado y una configuración de captura idénticos (péptidos 100 uM de 52215)

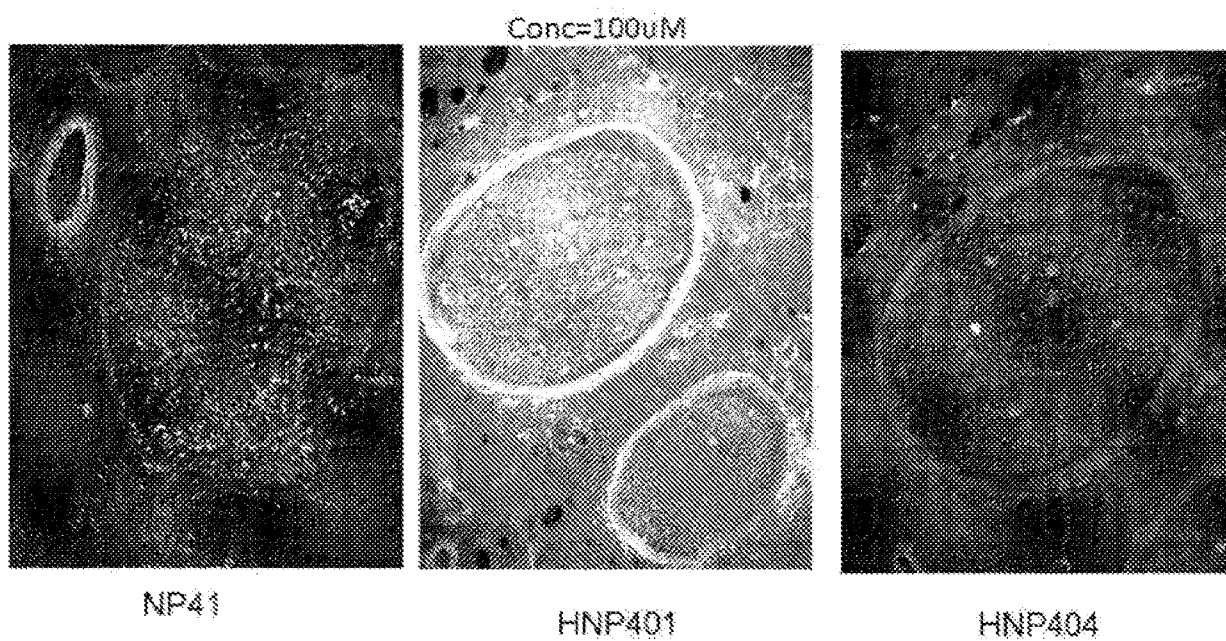


Figura 5

Nervio ciático de rata con HNP-401 *in vivo* **(81115)**



Izquierdo



Derecho

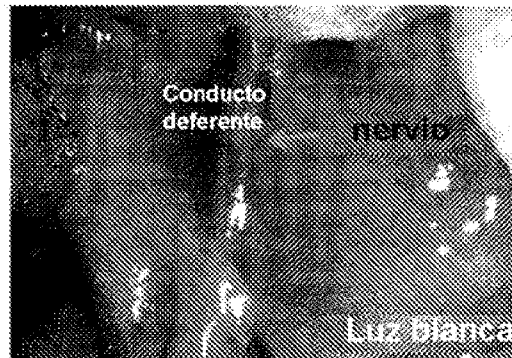
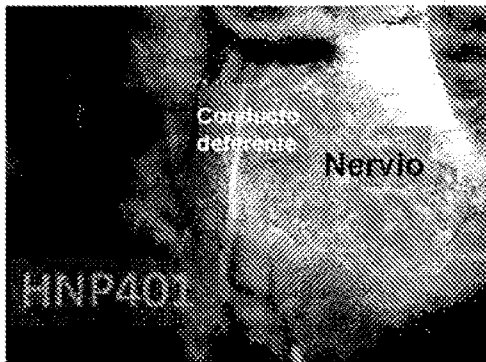
2 umoles de HNP401-FAM por vía retro-orbital en ratas macho

Obtención de imágenes de circulación a las 5 h *in vivo*

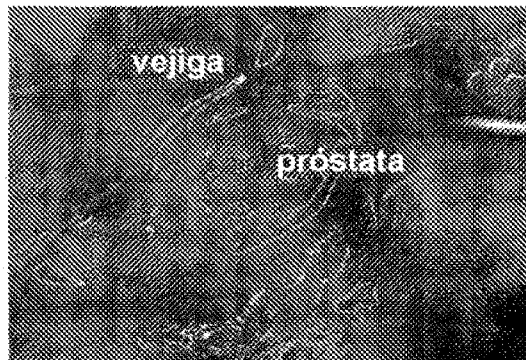
Condiciones estándar-12,2x10 s

Figura 6

**Comparación de imágenes de luz blanca y de fluorescencia de
HNP401 (9/15)/301(7/15 en próstata de rata
(HNP401 tiene un fondo mayor, pero mejor visibilidad del nervio)**

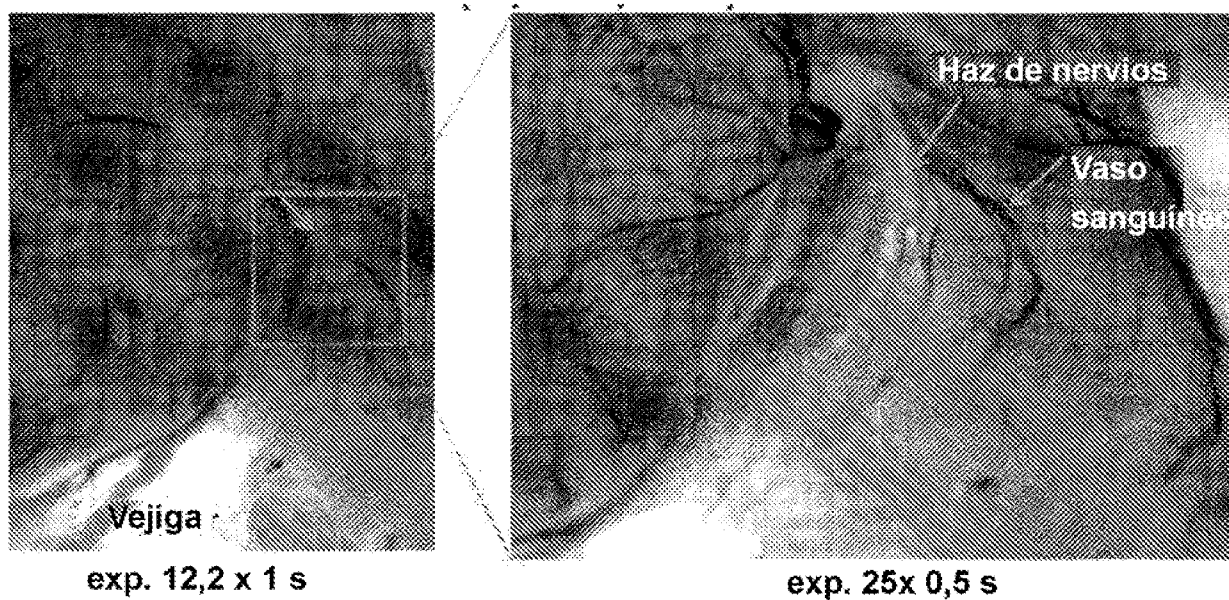


**2 umoles
de HNP401
por vía
retro-orbital,
circulación
a las 4 horas
8x 5 s**



**2 umoles
de HNP301
Obtención
de imágenes
de próstata
en una
exposición
retro-orbital
12 x5 s a las
4 horas**

Figura 7



2 umoles de NP401-FAM en rata macho 5 h
obtención de imágenes de circulación *in vivo*
Condiciones estándar - 12,2 x 10 s

FIG. 8A

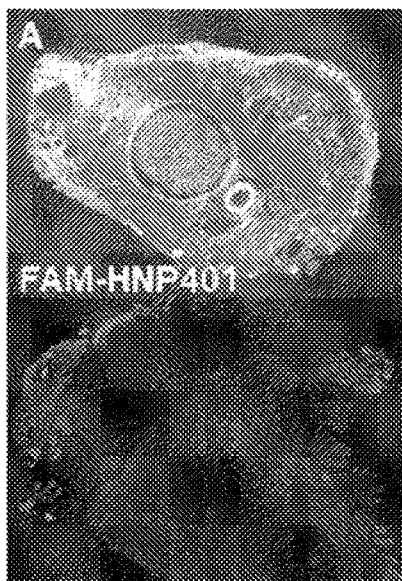


FIG. 8B

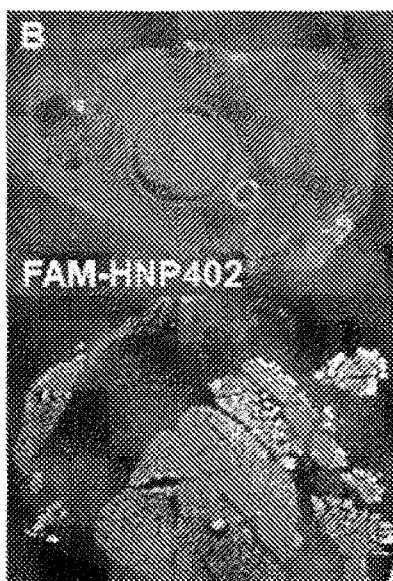


FIG. 8C

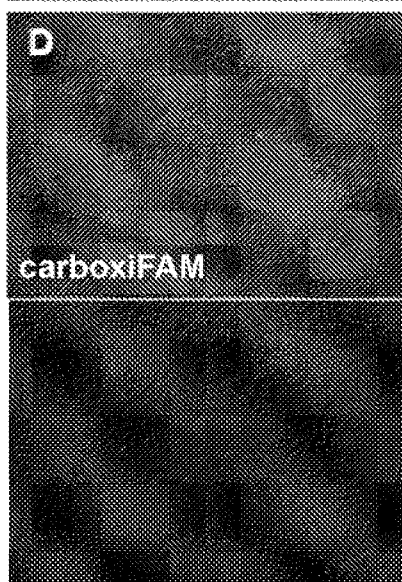


FIG. 8D

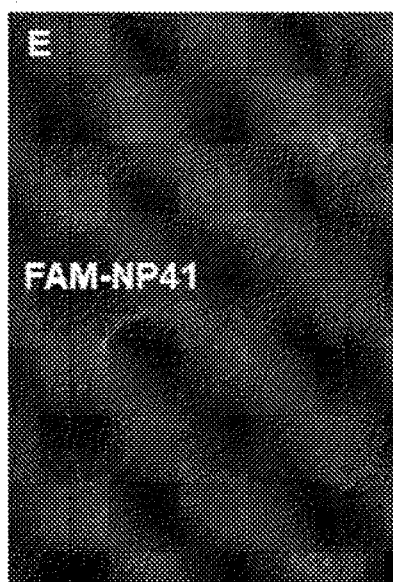


FIG. 8E

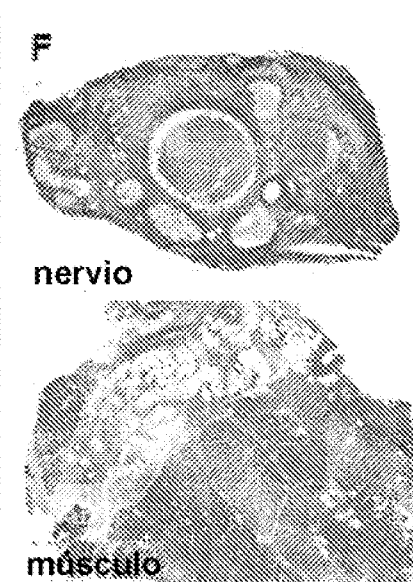
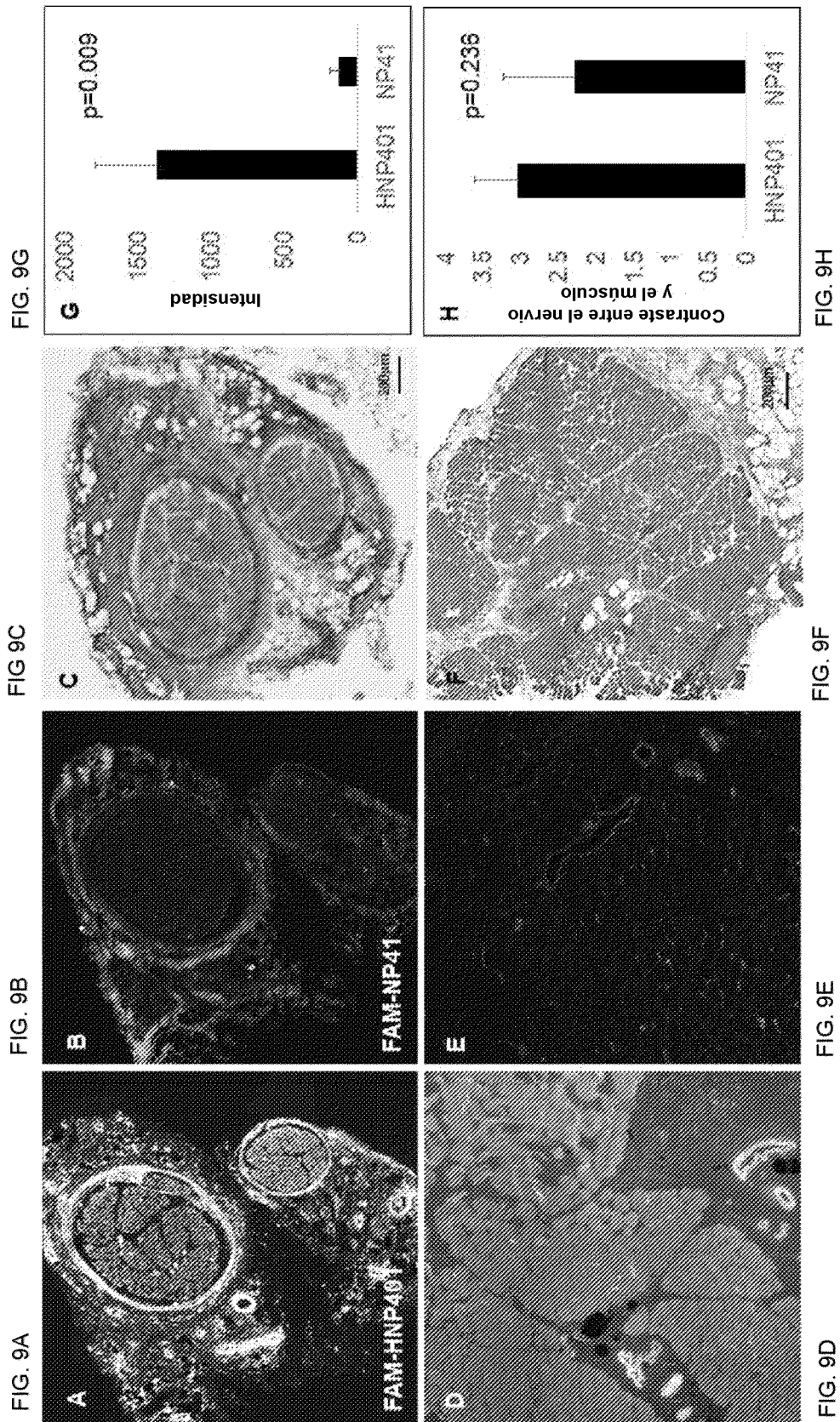


FIG. 8F



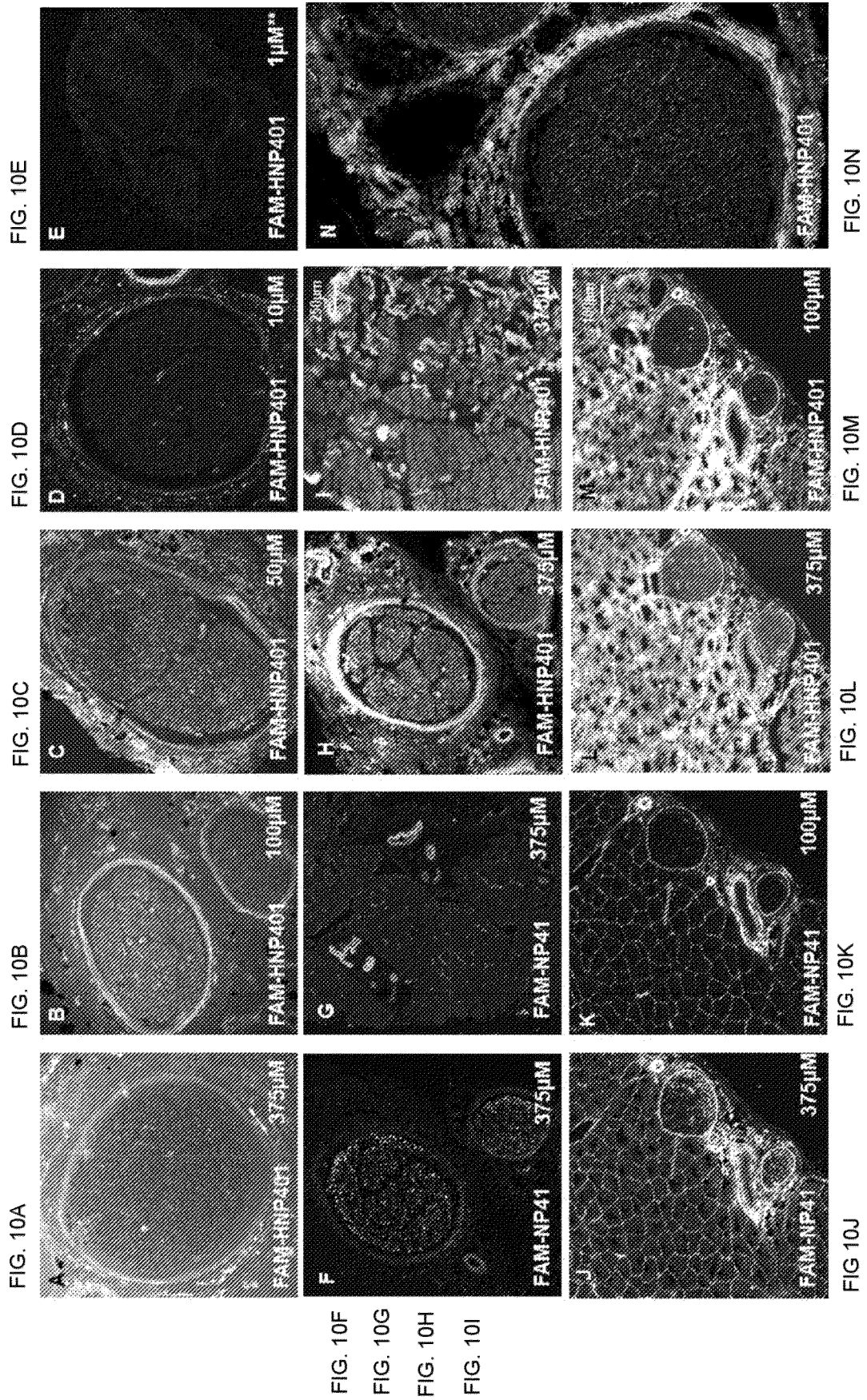


FIG. 11A



FIG. 11B

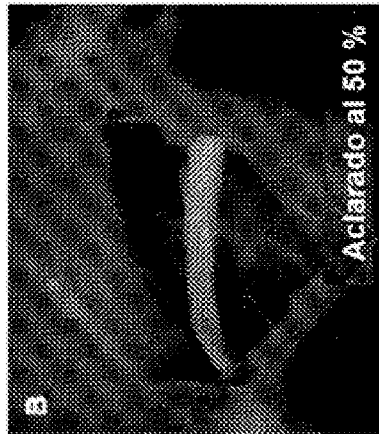


FIG. 11C

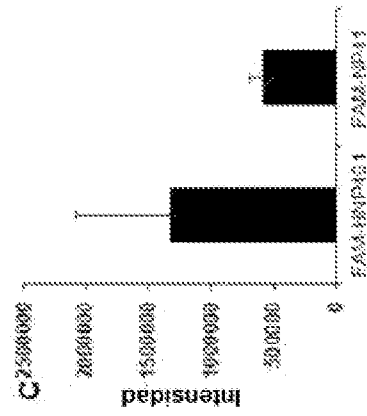


FIG. 11D

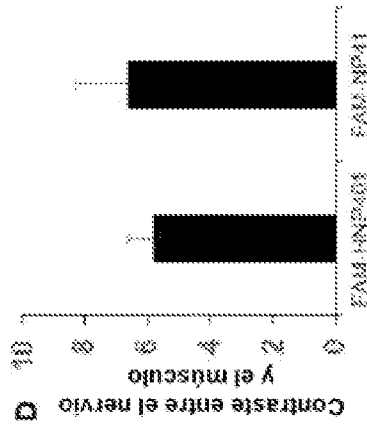


FIG. 11E

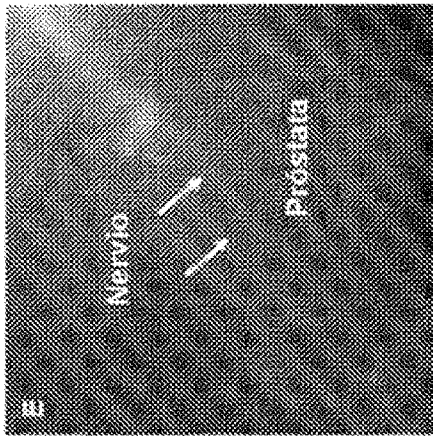


FIG. 11F

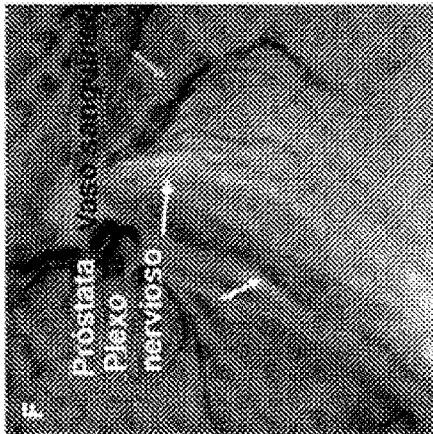


FIG. 11G

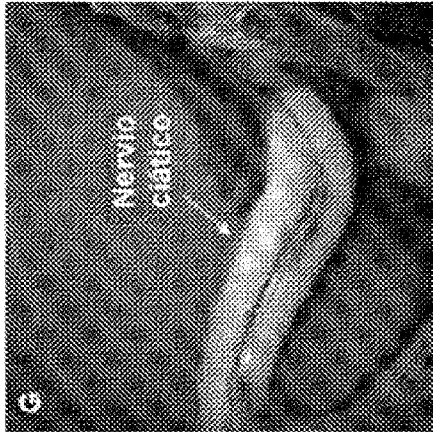
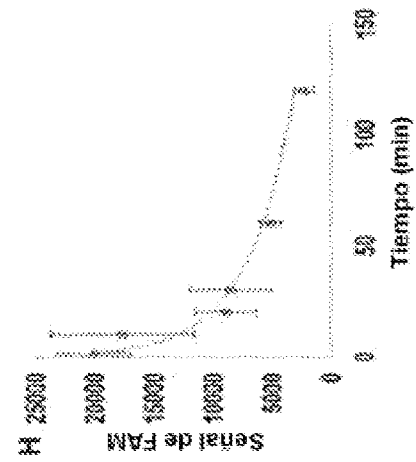
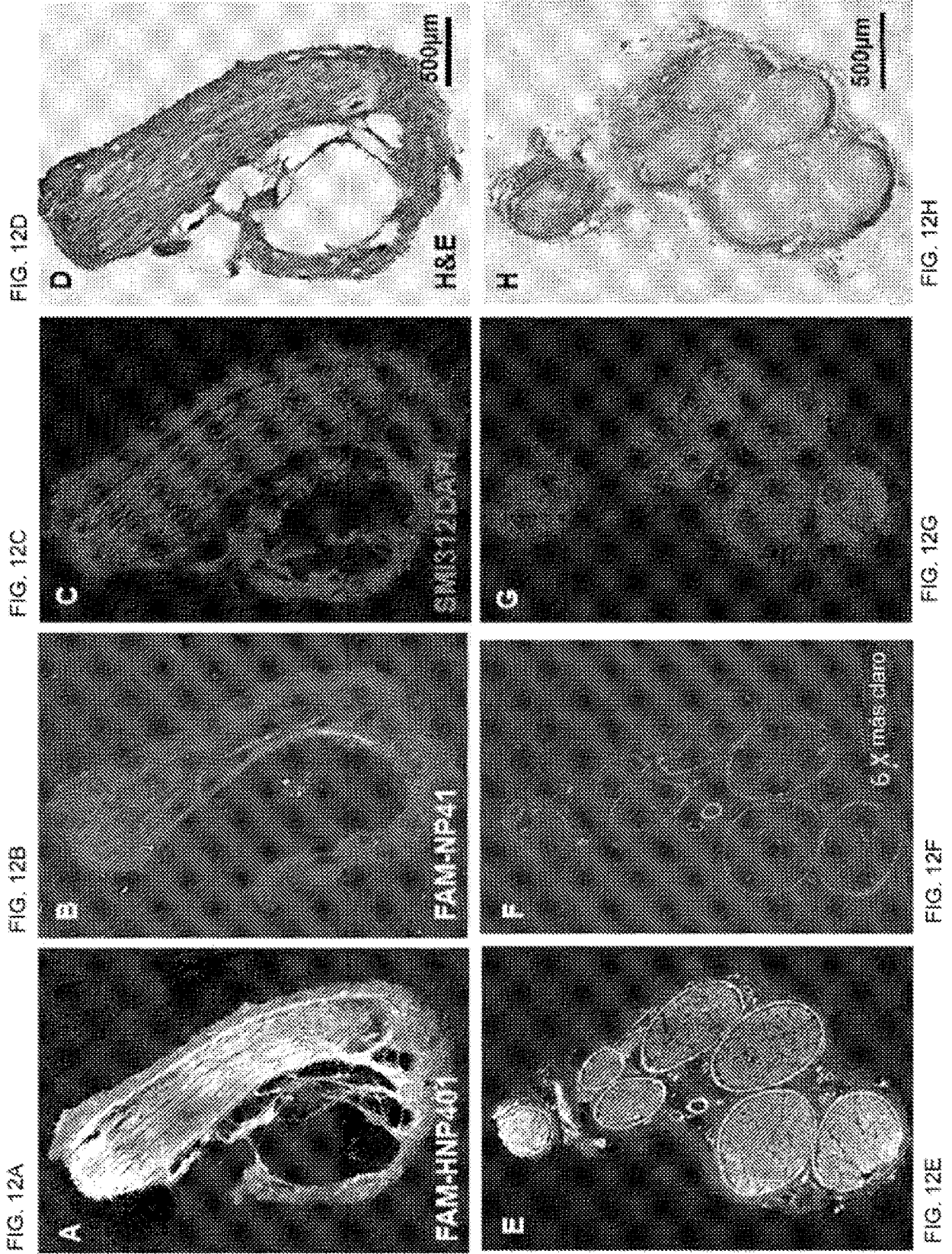
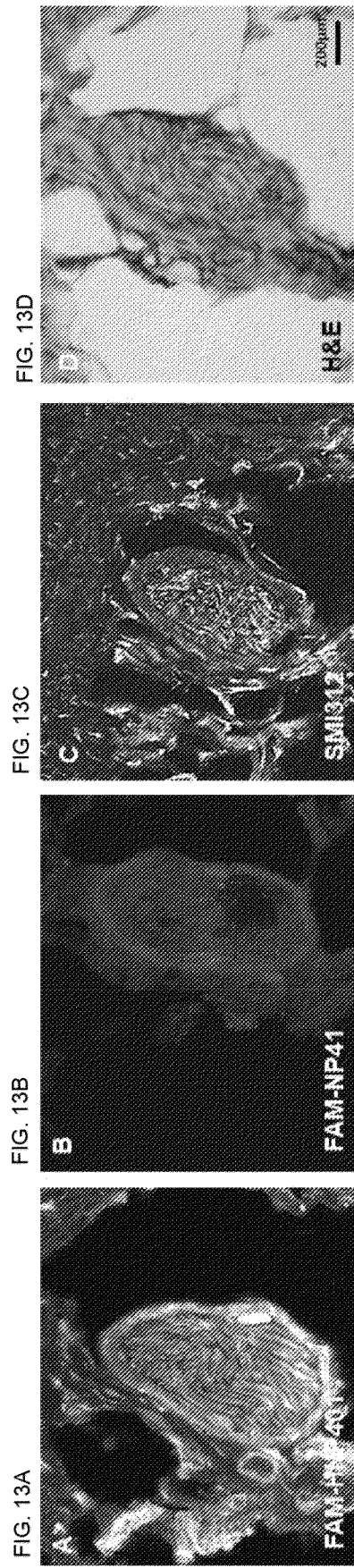


FIG. 11H







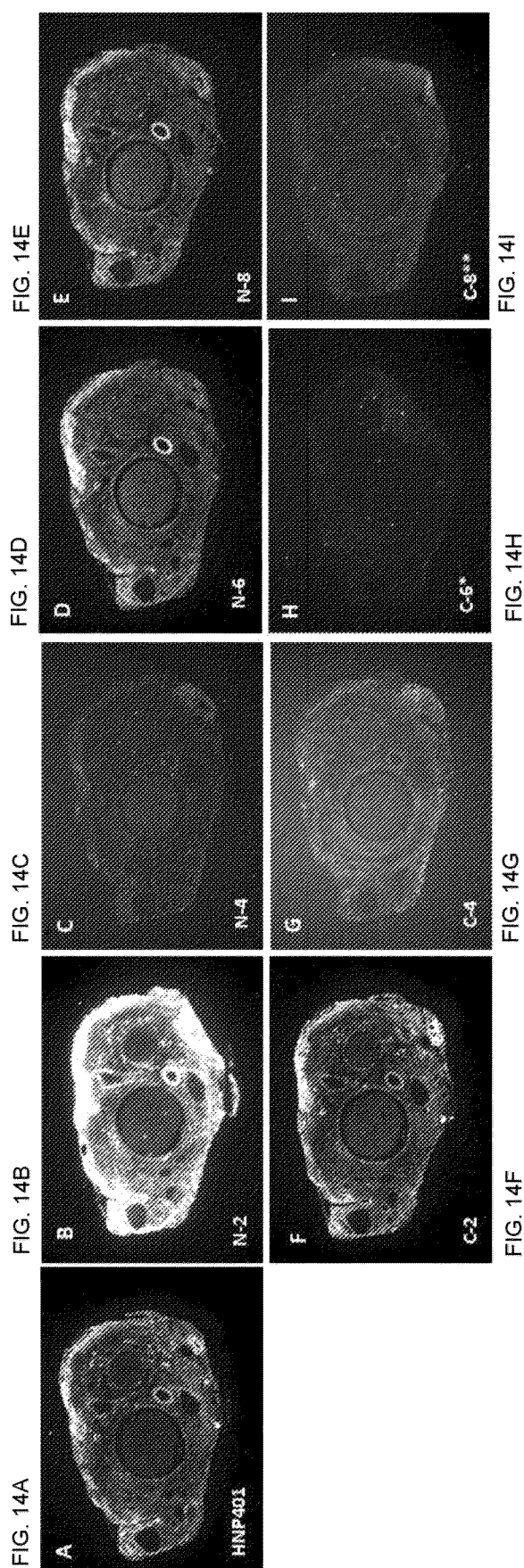
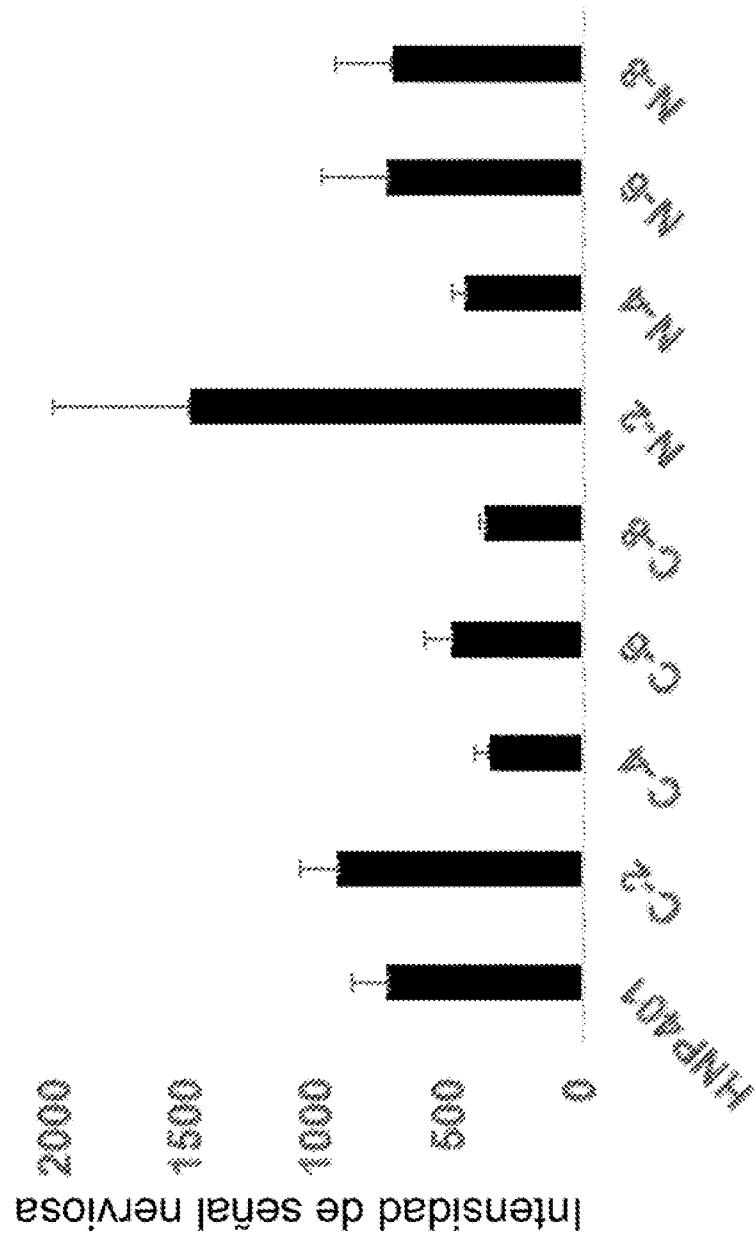
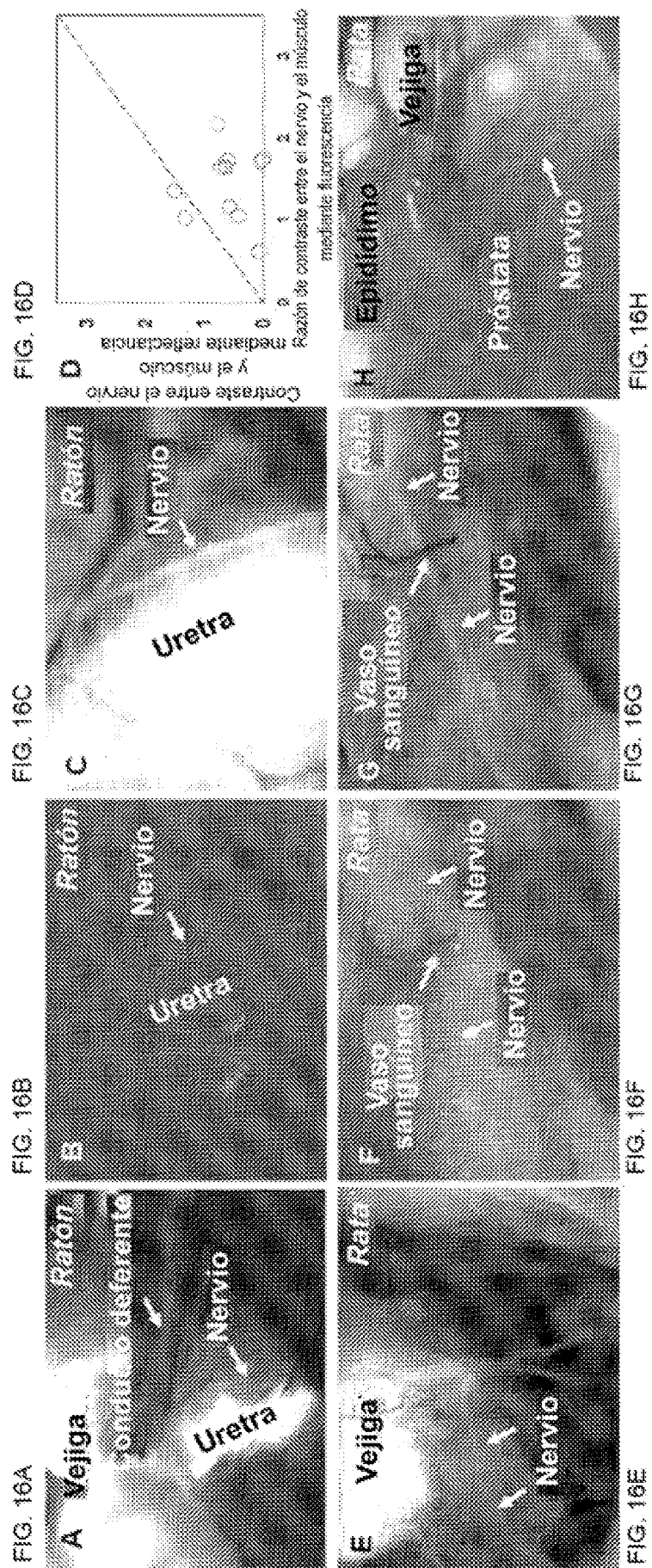
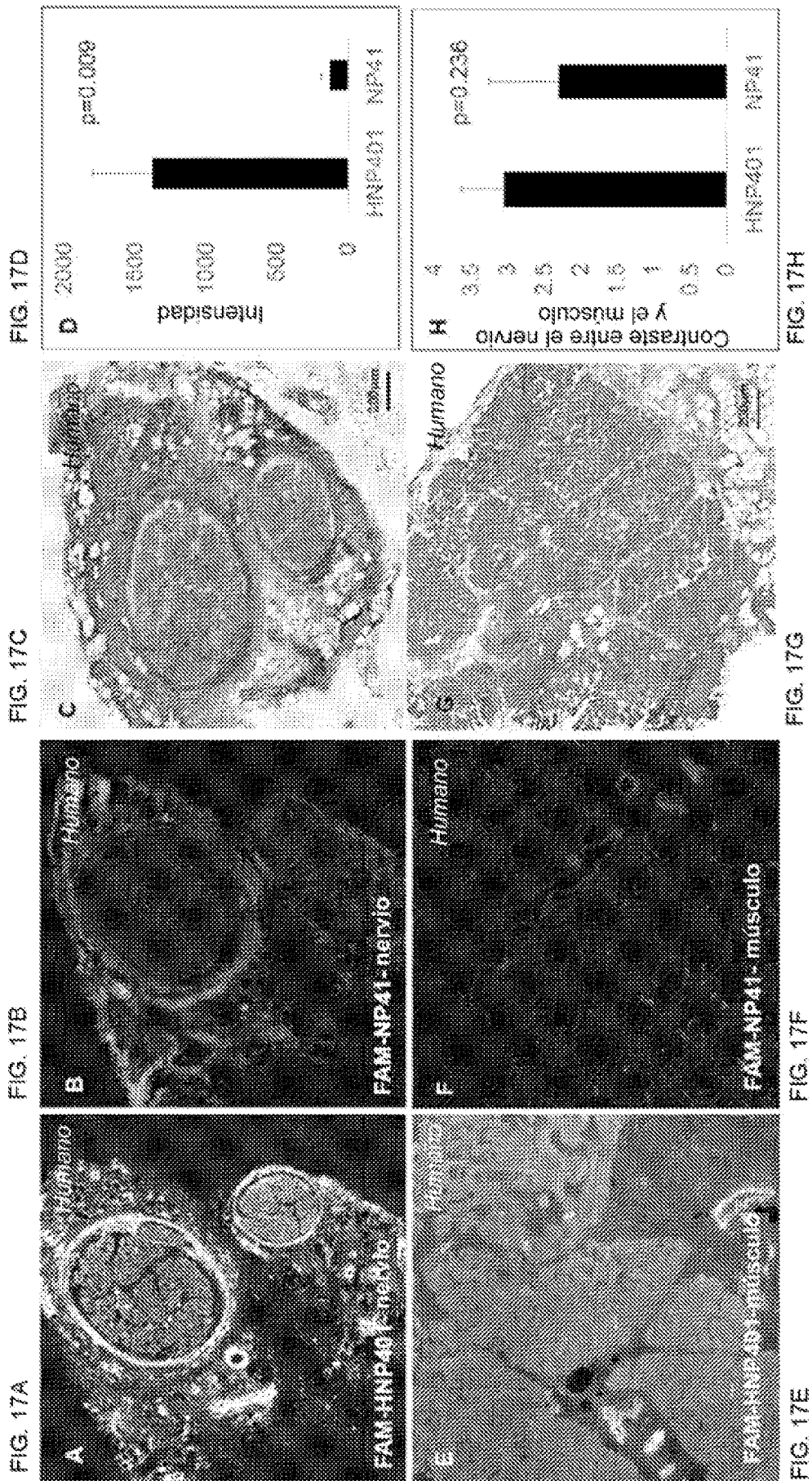
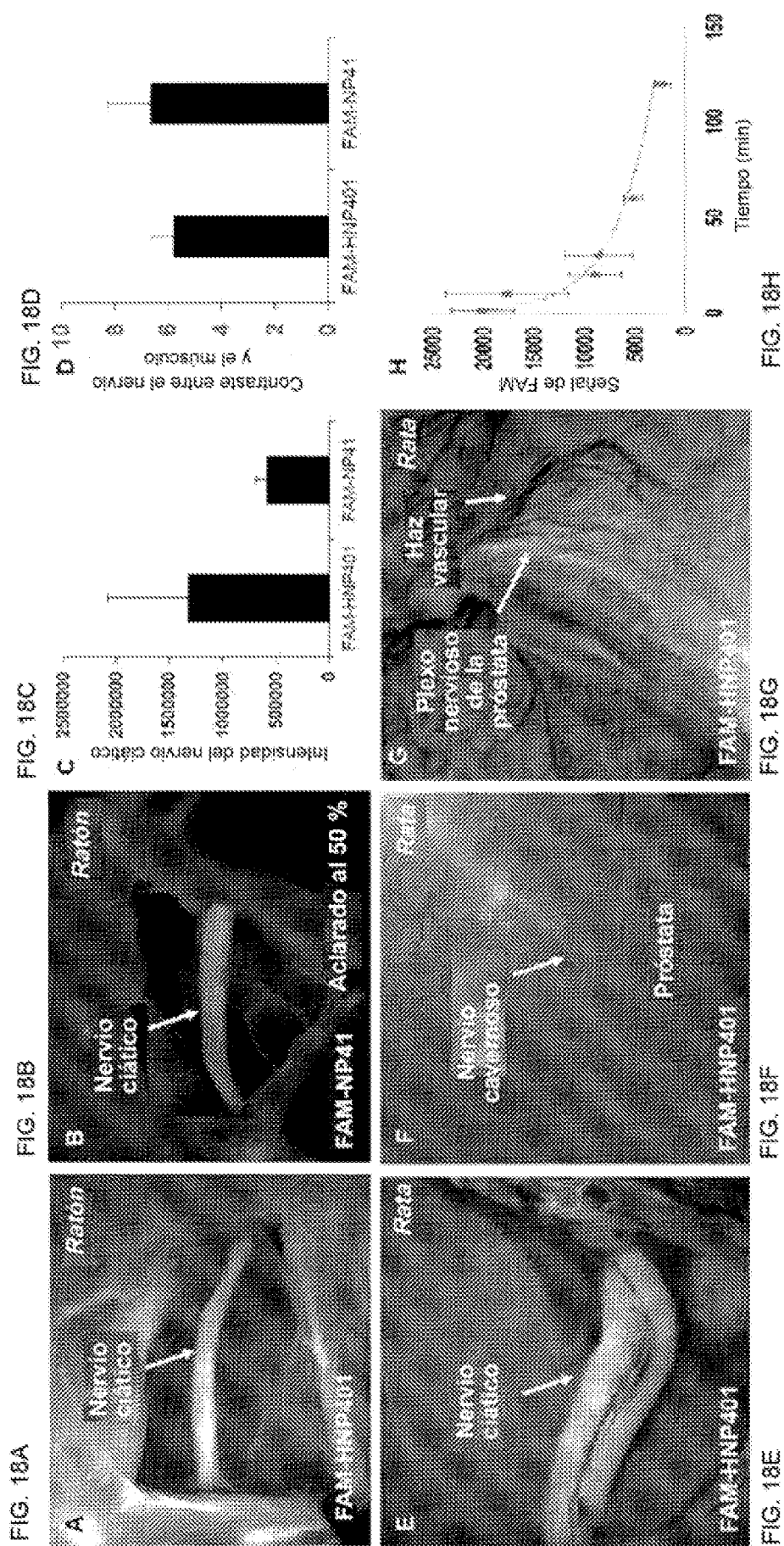


Figura 15









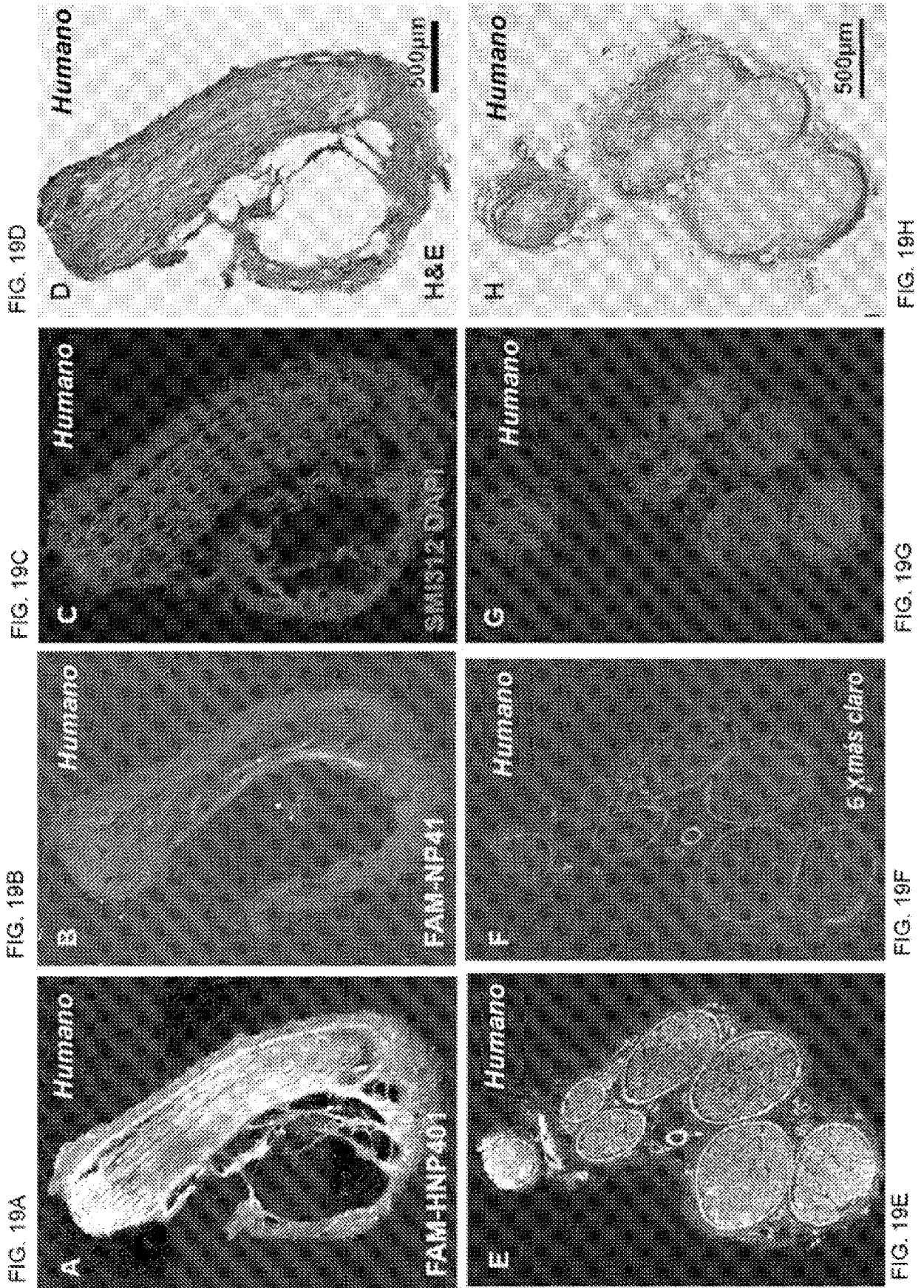


FIG. 20A

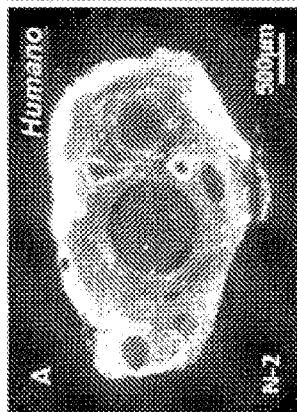


FIG. 20B

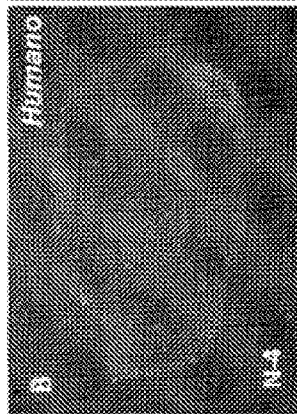


FIG. 20C

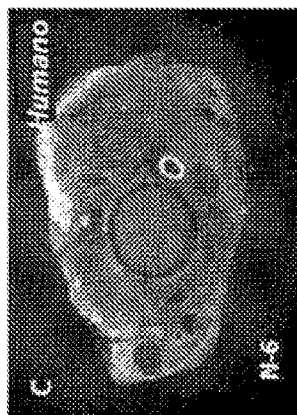


FIG. 20D



FIG. 20E

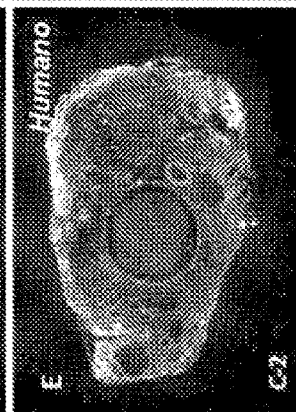


FIG. 20F



FIG. 20G

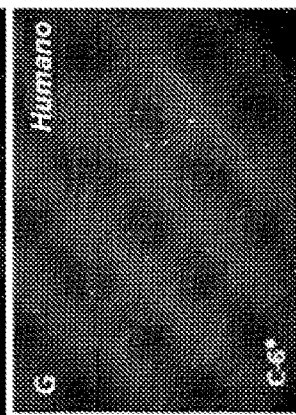


FIG. 20H

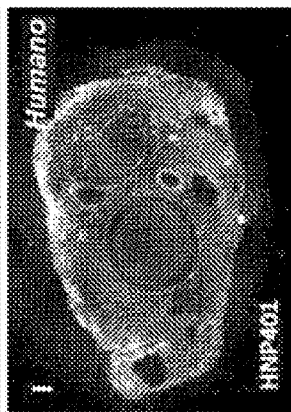
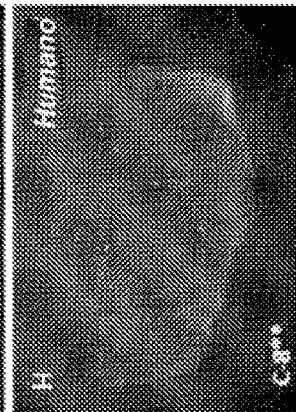


FIG. 20I

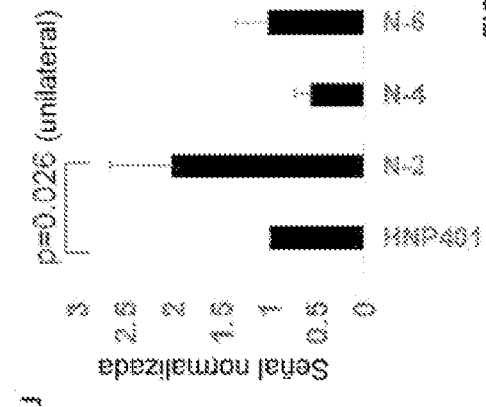


FIG. 20J

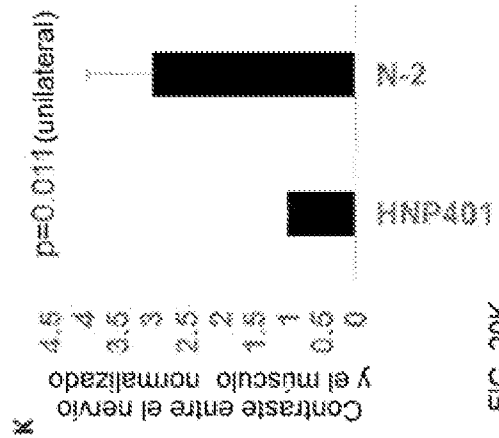


FIG. 20K

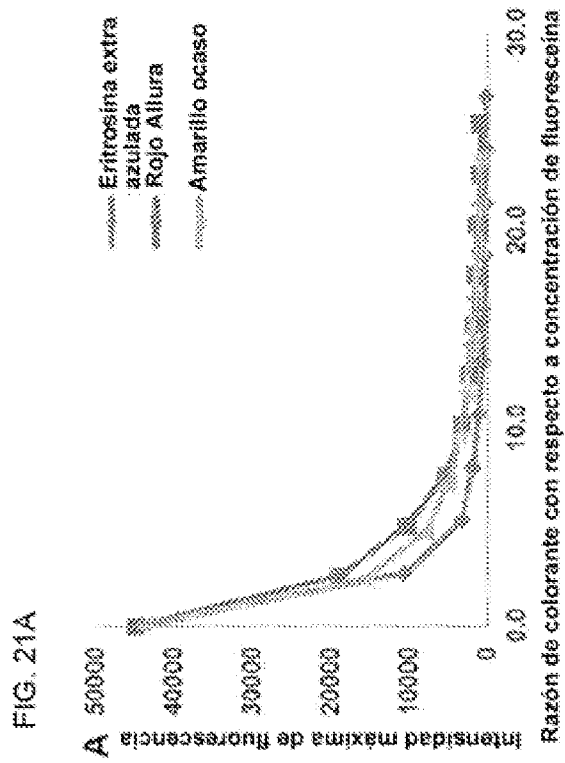


FIG. 21B

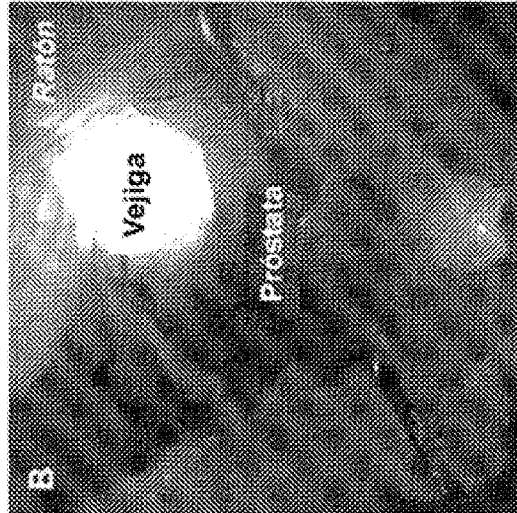


FIG. 21C

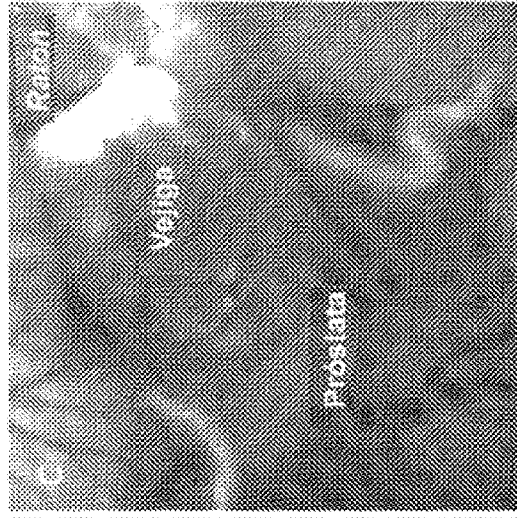


FIG. 22A

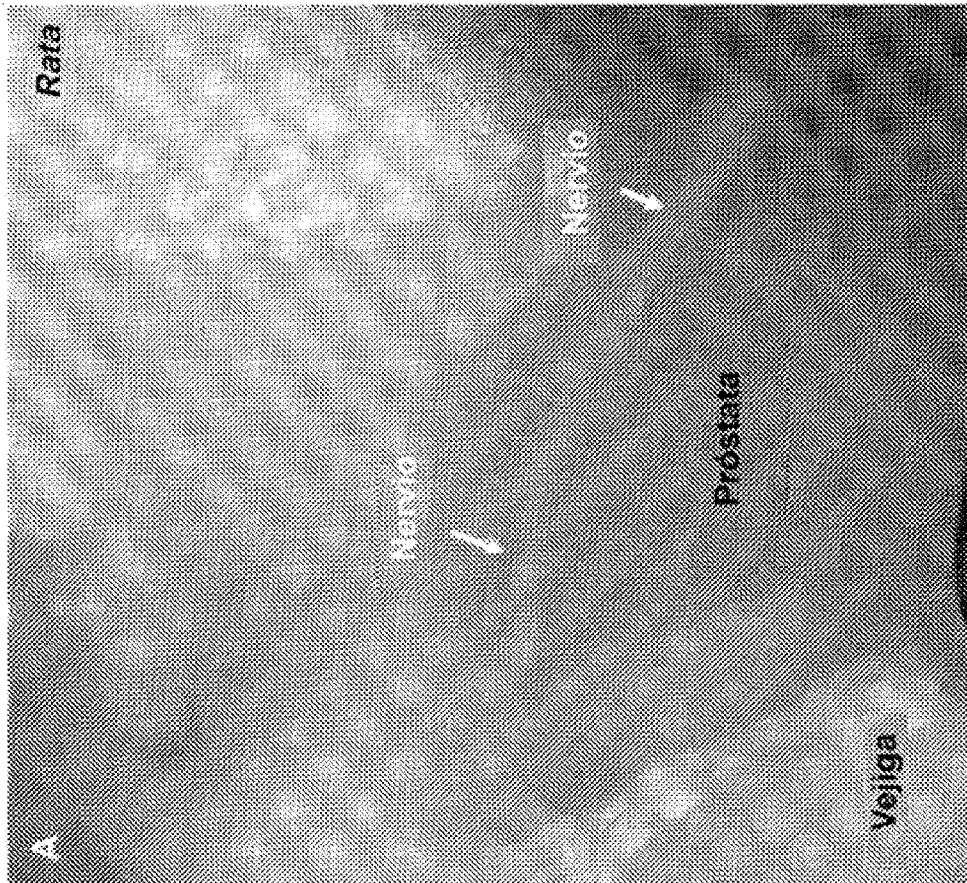


FIG. 22B

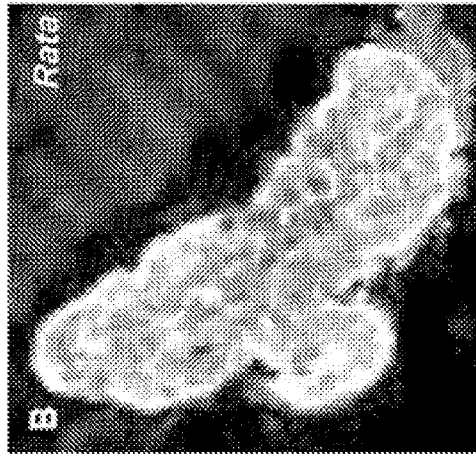


FIG. 22C

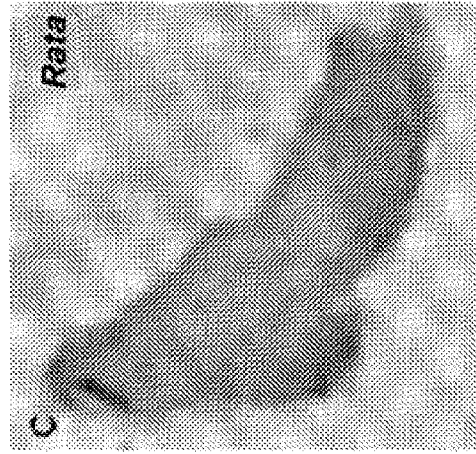


FIG. 22D

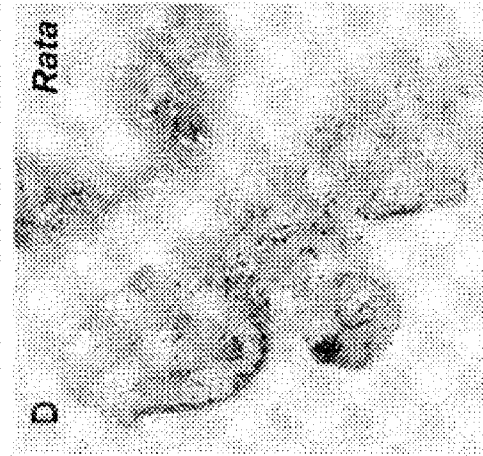


FIG. 22E

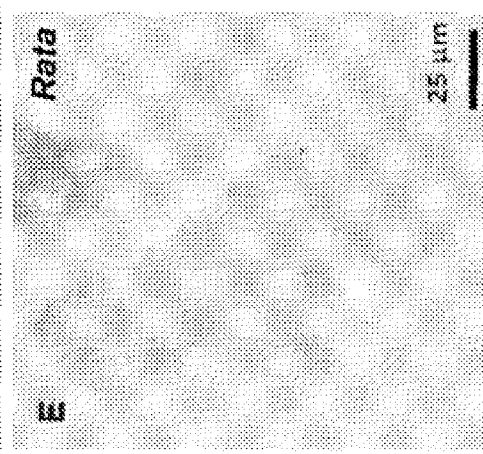


FIG. 23A



FIG. 23D

FIG. 23B

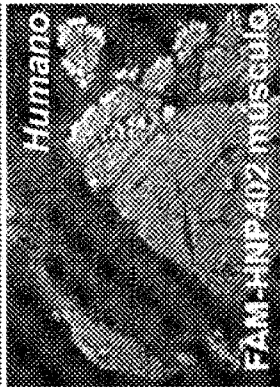
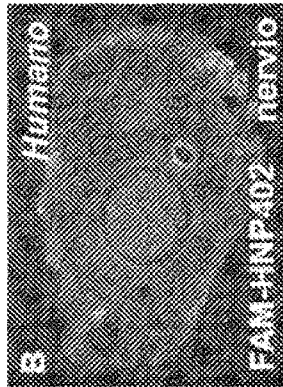


FIG. 23E

FIG. 23C

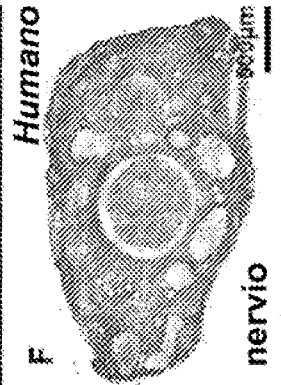
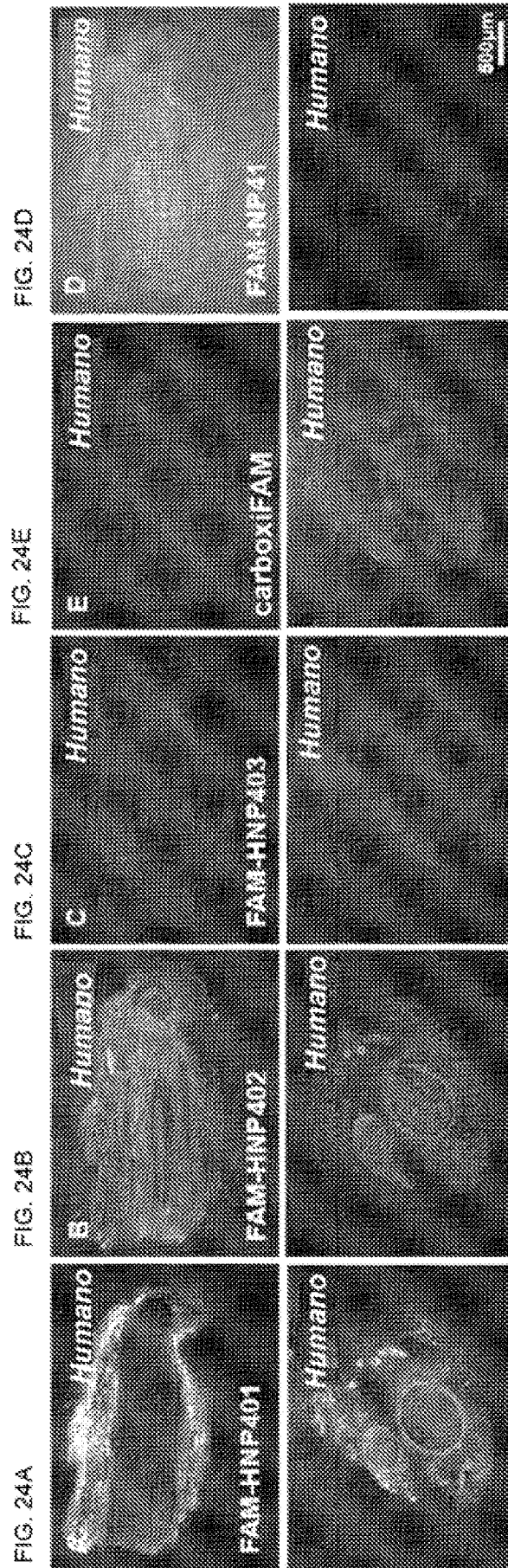


FIG. 23F



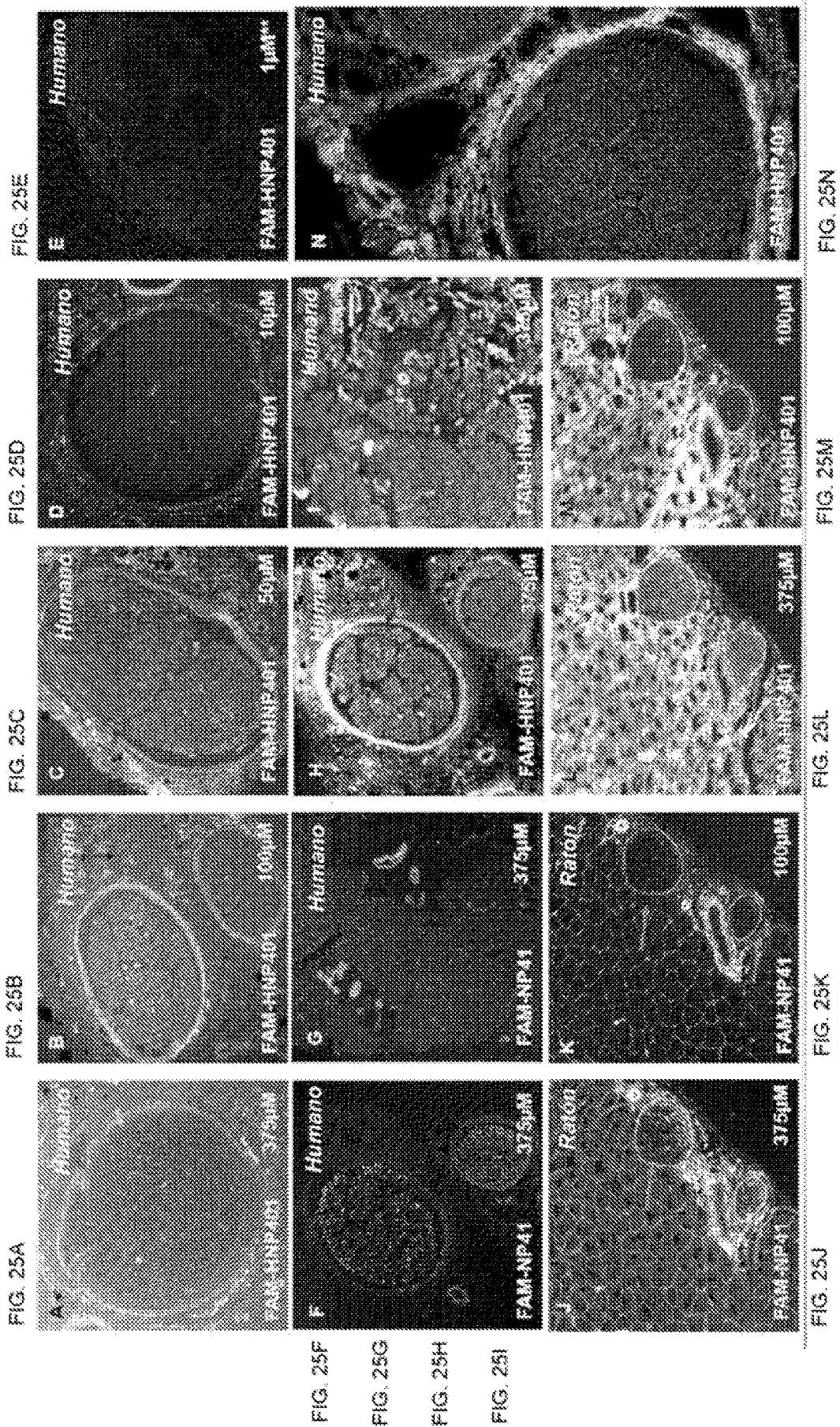


FIG. 26A

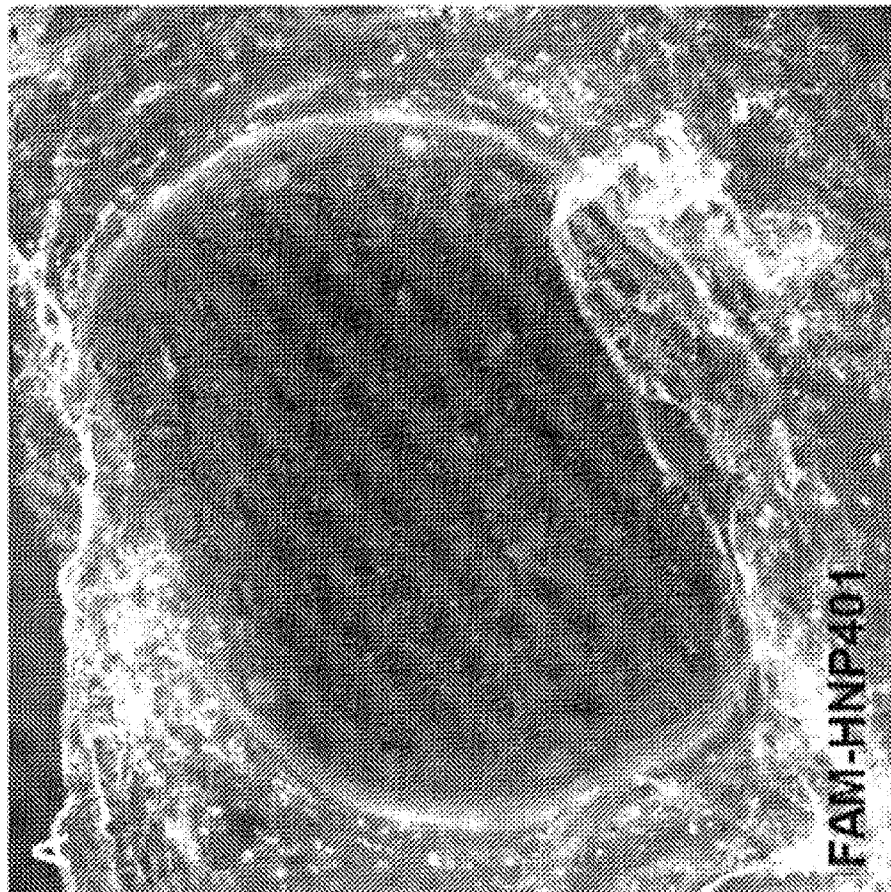


FIG. 26B

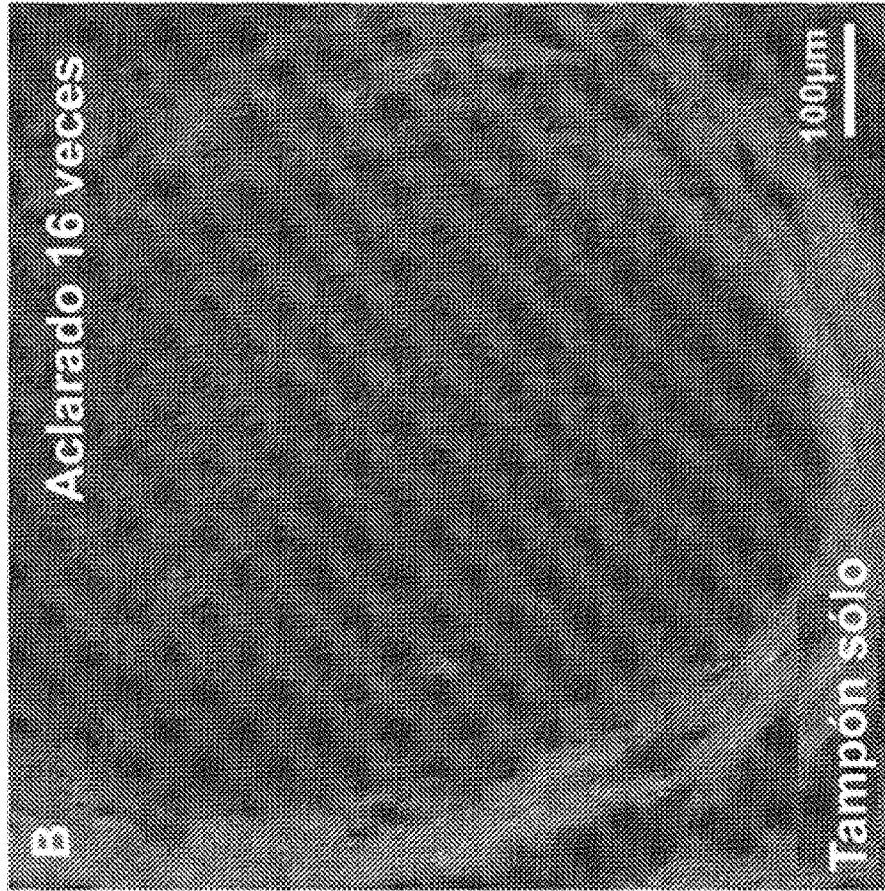
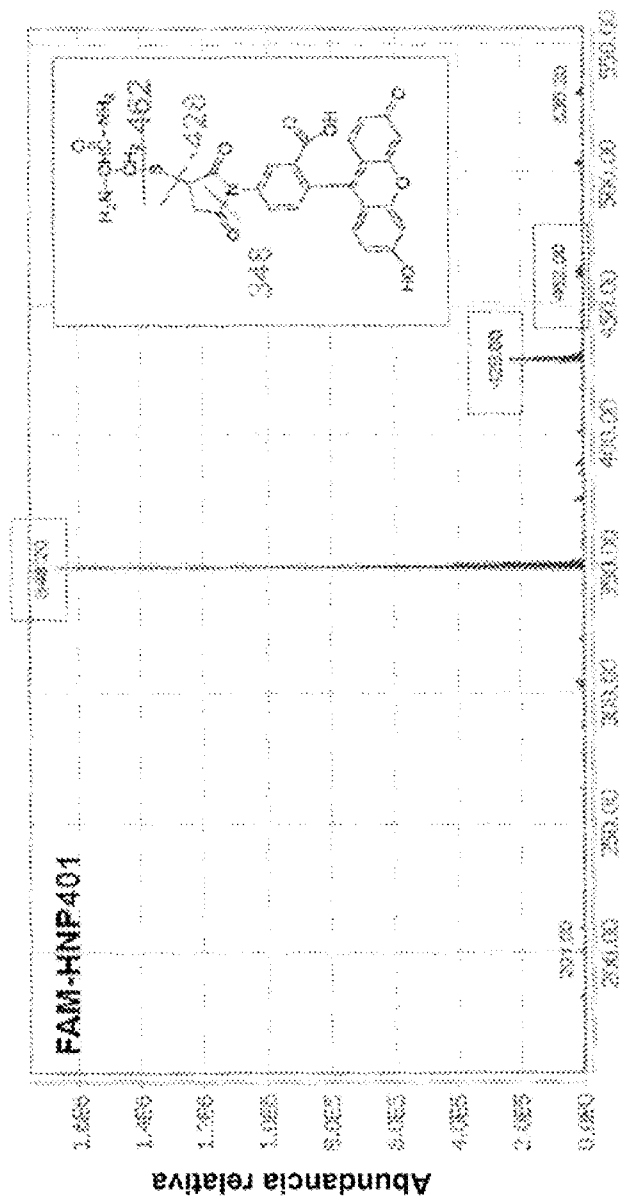


FIG. 27A



peso molecular

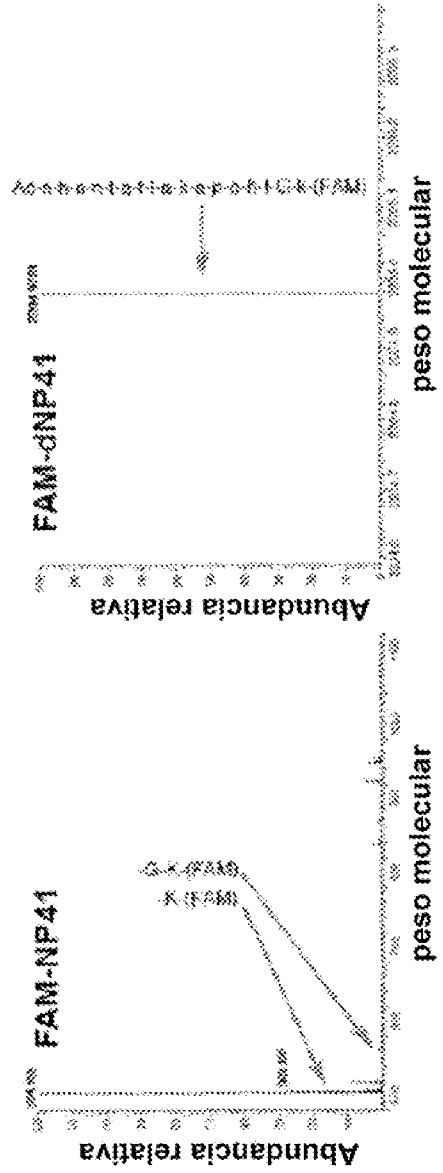


FIG. 27B

FIG. 27C

FIG. 28A

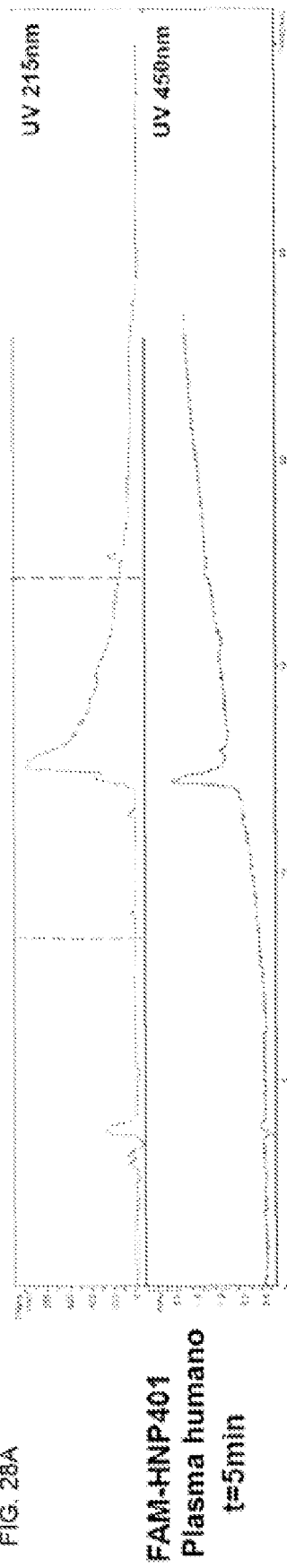
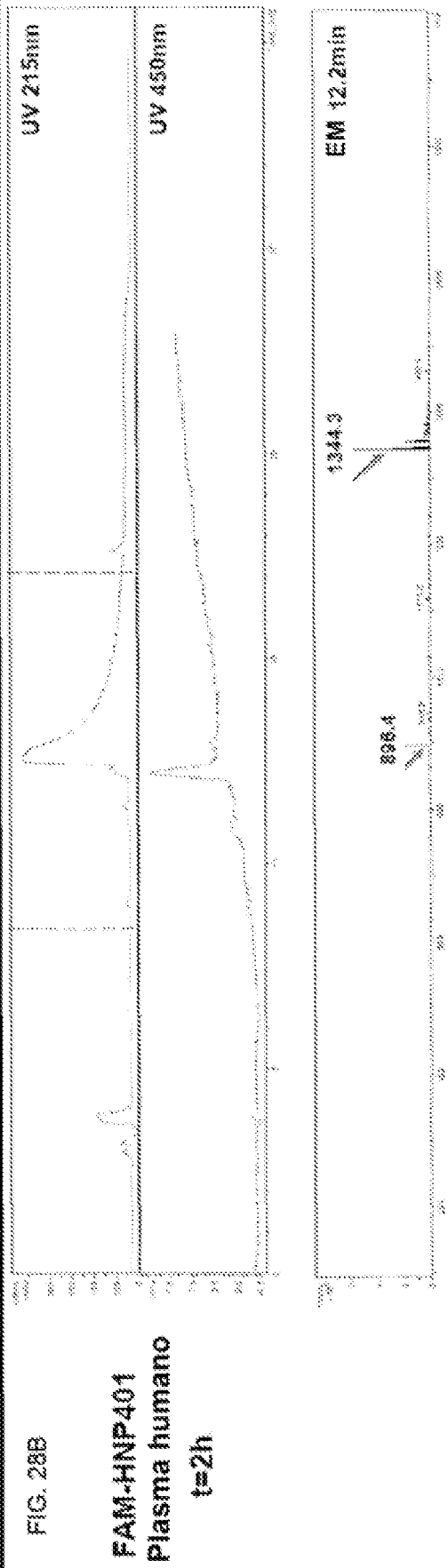


FIG. 28B



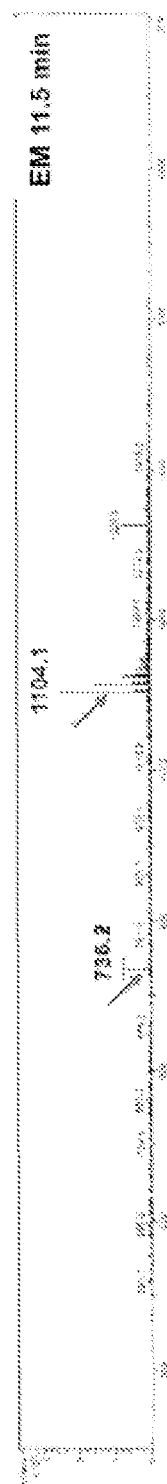
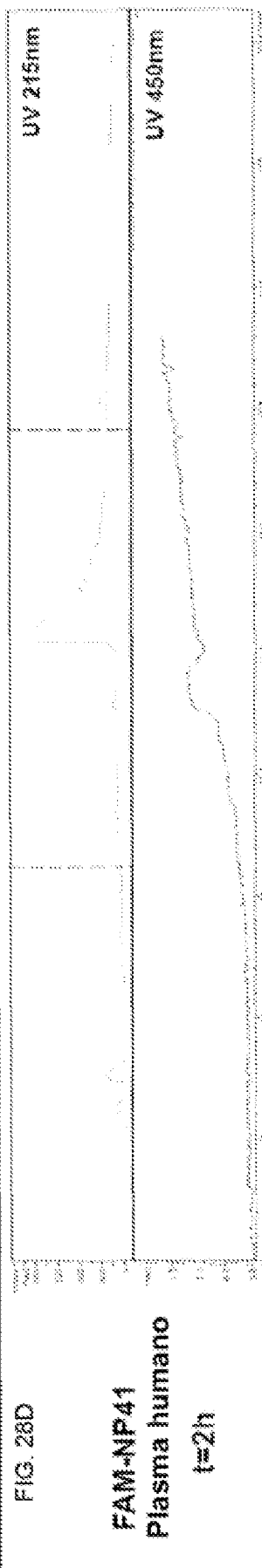
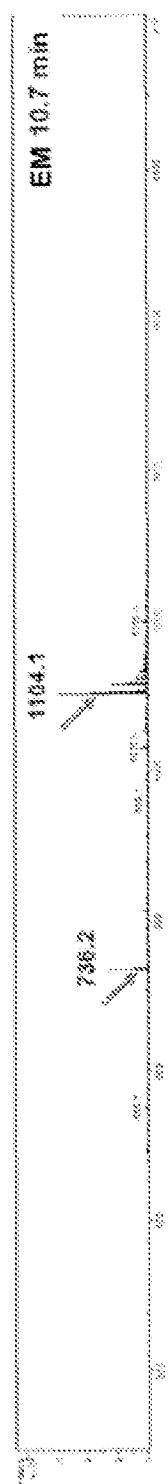
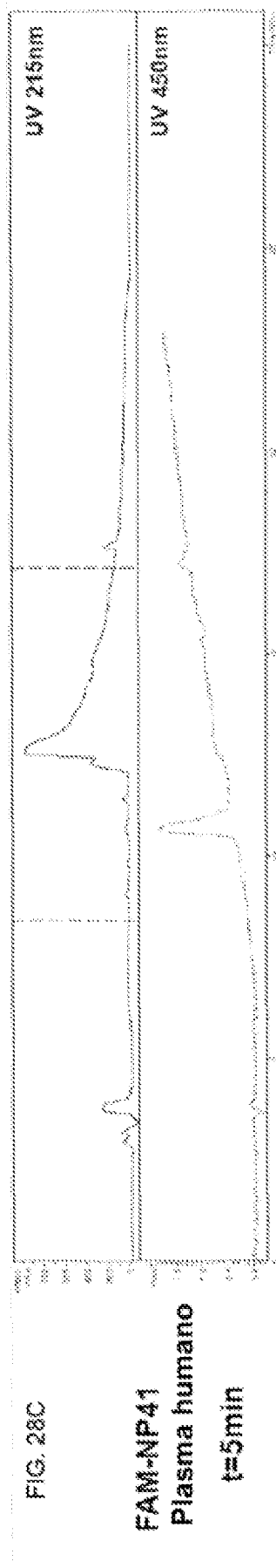


FIG. 26E

Líquido
cefalorraquídeo
de rata
FAM-HNP401
T=2h

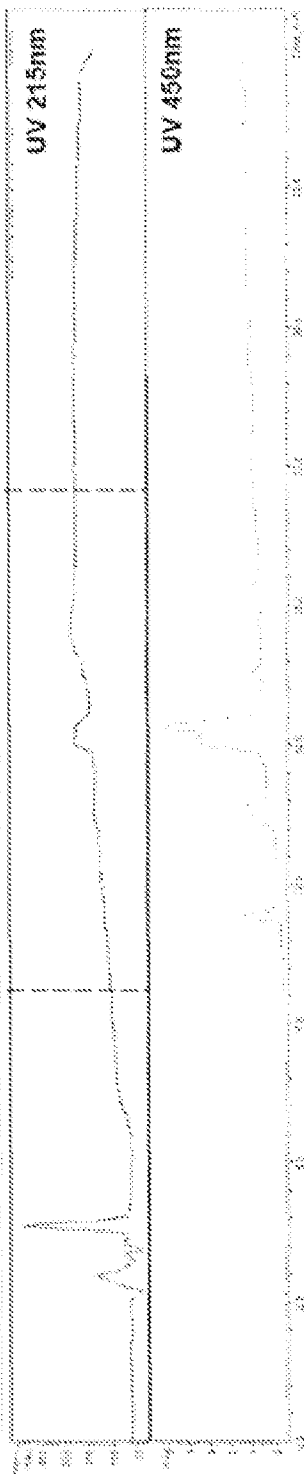


FIG. 26F

Líquido
cefalorraquídeo
de rata
FAM-NP41
T=2h

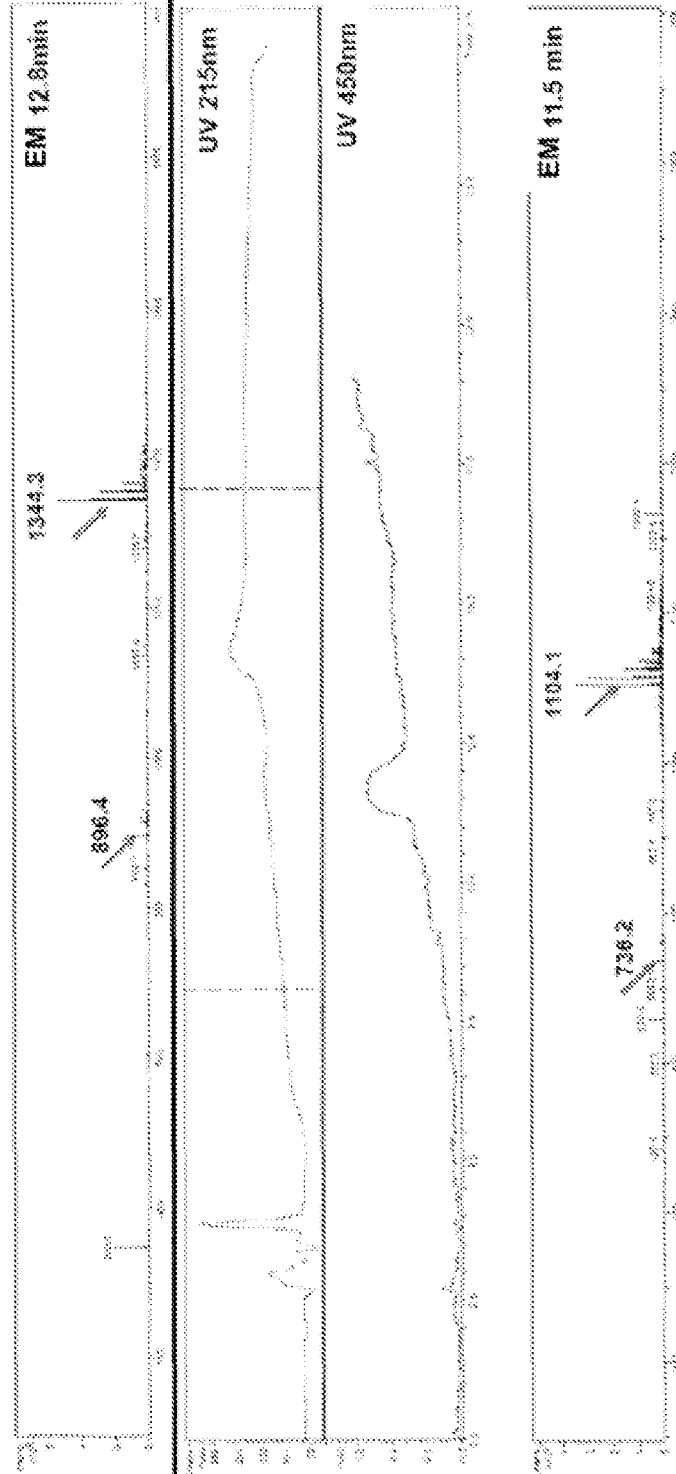


FIG. 29A

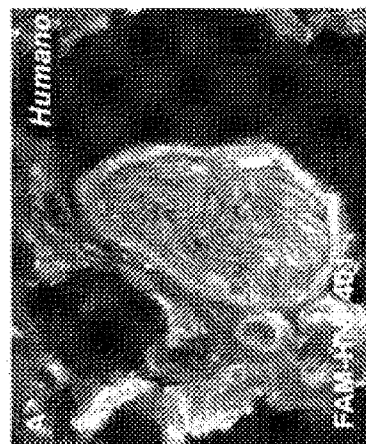


FIG. 29B

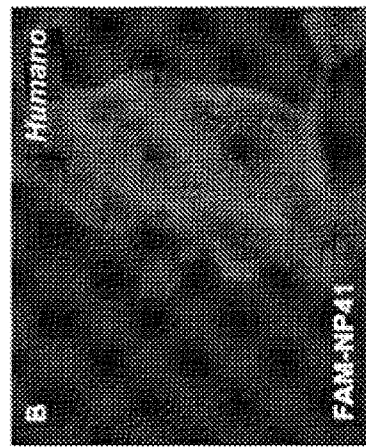


FIG. 29C

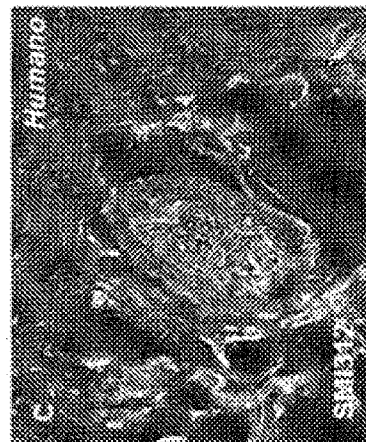


FIG. 29D

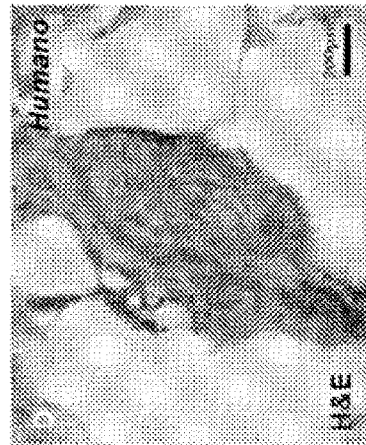


Figura 30

Nombre	Secuencia peptidica
HNP401 con ligador GGC	Ac-SGQVPWEEPYYVVKKSSGGC (SEQ ID NO:4)
HNP402 con ligador GGC	Ac-WEYHYVDLNWTSQHPQGGC (SEQ ID NO:5)
HNP403 con ligador GGC	Ac-DLPDIIWDFNWETAGGC (SEQ ID NO:6)
NP41	Ac-SHSNTQTAKAPEHTGC (SEQ ID NO:17)
HNP401-N-2 con ligador GGC	Ac-QVPWEEPYYVVKKSSGGC (SEQ ID NO:7)
HNP401-N-4 con ligador GGC	Ac-PWEEPYYVVKKSSGGC (SEQ ID NO:8)
HNP401-N-6 con ligador GGC	Ac-EEPYYVVKKSSGGC (SEQ ID NO:9)
HNP401-N-8 con ligador GGC	Ac-PYYVVKKSSGGC (SEQ ID NO:10)
HNP401-C-2 con ligador GGC	Ac-SGQVPWEEPYYVVKKGGC (SEQ ID NO:11)
HNP401-C-4 con ligador GGC	Ac-SGQVPWEEPYYVVGCC (SEQ ID NO:12)
HNP401-C-6 con ligador GGC	Ac-SGQVPWEEPYYGGC (SEQ ID NO:13)
HNP401-C-8 con ligador GGC	Ac-SGQVPWEEPPGGC (SEQ ID NO:14)
HNP401-N-2	QVPWEEPYYVVKKSS (SEQ ID NO:20)
HNP401-N-4	PWEEPYYVVKKSS (SEQ ID NO:22)
HNP401-N-6	EEPYYVVKKSS (SEQ ID NO:23)
HNP401-N-8	PYYVVKKSS (SEQ ID NO:24)
HNP401-C-2	SGQVPWEEPYYVVKK (SEQ ID NO:25)
HNP401-C-4	SGQVPWEEPYYVV (SEQ ID NO:26)
HNP401-C-6	SGQVPWEEPPYY (SEQ ID NO:27)
HNP401-C-8	SGQVPWEEP (SEQ ID NO:28)
HNP401-N-2 (con ligador GG)	QVPWEEPYYVVKKSSGG (SEQ ID NO:21)
HNP401-N-4 (con ligador GG)	PWEEPYYVVKKSSGG (SEQ ID NO:118)
HNP401-N-6 (con ligador GG)	EEPYYVVKKSSGG (SEQ ID NO:119)
HNP401-N-8 (con ligador GG)	PYYVVKKSSGG (SEQ ID NO:120)
HNP401-C-2 (con ligador GG)	SGQVPWEEPYYVVKKGG (SEQ ID NO:121)
HNP401-C-4 (con ligador GG)	SGQVPWEEPYYVVG (SEQ ID NO:122)
HNP401-C-6 (con ligador GG)	SGQVPWEEPYYGG (SEQ ID NO:123)
HNP401-C-8 (con ligador GG)	SGQVPWEEPPG (SEQ ID NO:124)