

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 953 883**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10	(2006.01) A61K 38/12	(2006.01)
A61K 38/16	(2006.01) G01N 33/68	(2006.01)
A61K 9/20	(2006.01)	
A61K 9/00	(2006.01)	
A61K 9/10	(2006.01)	
A61P 25/28	(2006.01)	
A61P 31/18	(2006.01)	
C07K 7/08	(2006.01)	
C07K 7/64	(2006.01)	
C07K 14/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2014** **E 20180219 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023** **EP 3747454**

54 Título: **Péptidos de unión beta amiloide y sus usos para el tratamiento y el diagnóstico de la demencia de Alzheimer**

30 Prioridad:

26.09.2013 DE 102013016002
12.03.2014 DE 102014003262

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.11.2023

73 Titular/es:

PRIAVOID GMBH (100.0%)
Merowinger Platz 1a
40225 Düsseldorf, DE

72 Inventor/es:

WILLBOLD, DIETER

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 953 883 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 de unión beta amiloide y sus usos para el tratamiento y el diagnóstico de la demencia de Alzheimer

- 5 La invención se refiere a péptidos de unión beta amiloide y su uso para el tratamiento y el diagnóstico de la demencia de Alzheimer.

Estado de la técnica

- 10 La solicitud de patente WO 2013/150127 A2 describe sustancias poliméricas multivalentes de unión beta amiloide, que consisten en varias sustancias interconectadas que ya tienen propiedades de unión beta amiloide, y el uso de estas sustancias, en particular en medicina.

- 15 Debido al desarrollo demográfico en las próximas décadas, aumentará el número de personas que padecen enfermedades relacionadas con la edad. En este contexto cabe mencionar la denominada enfermedad de Alzheimer (EA, demencia de Alzheimer, latín = Morbus Alzheimer).

- 20 Hasta el momento, no existe un principio activo o medicamento que actúe contra las causas de la EA. Los medicamentos utilizados y autorizados hasta ahora alivian algunos de los síntomas que ocurren en la demencia de Alzheimer. Sin embargo, no pueden retrasar el progreso de la enfermedad ni lograr una cura. Hay algunas sustancias que han demostrado tener éxito en las pruebas con animales en la prevención, pero no (necesariamente) en el tratamiento de la EA. Los principios activos contra las enfermedades neurodegenerativas se conocen a partir del documento DE 10 2006 015 140 A1.

- 25 Una característica de la enfermedad de Alzheimer son los depósitos extracelulares del péptido beta amiloide (péptido A-beta, A β o péptido A β). Esta deposición del péptido A-beta en placas se encuentra típicamente en los cerebros *post mortem* de pacientes con EA. Por lo tanto, se consideran diferentes formas del péptido A-beta como, por ejemplo, las fibrillas, responsables de la aparición y progresión de enfermedades. Además, desde hace algunos años, se ven los pequeños oligómeros A-beta libremente difusibles como la causa principal del desarrollo y progreso de la EA.

- 30 Las sustancias conocidas del estado de la técnica reducen la concentración de monómeros y/u oligómeros A-beta de varias maneras. Por ejemplo, se conocen moduladores de la gamma secretasa que se han utilizado para la prevención en experimentos con animales.

- 35 A partir del documento WO 02/081505 A2 se conocen diversas secuencias de D-aminoácidos que se unen a péptidos A β . Estas secuencias de D-aminoácidos se unen a los péptidos β -amiloides con una constante de disociación (valor K_D) de 4 μ M.

- 40 A partir del documento WO 2011/147797 A2 se conocen compuestos híbridos, que consiste en aminopirazoles y péptidos que previenen la oligomerización de A-beta.

Los compuestos que interaccionan con los péptidos A-beta se conocen a partir de los documentos DE 10 2008 037 564 A1, DE 696 21 607 T2 y DE 10 2010 019 336 A1. La unión de un polímero multivalente a dos parejas de unión se describe en el documento WO 2008/116293 A1.

- 45 Con muchas sustancias que han mostrado resultados positivos en experimentos con animales, no se pudo confirmar este efecto en ensayos clínicos en humanos. En los estudios clínicos de fase II y III, solo las personas que han sido diagnosticadas claramente con ED pueden ser tratadas. Aquí, una ligera reducción en la concentración de monómero A β ya no es suficiente para evitar que los oligómeros A β existentes se formen aún más, p. ej., a través de un mecanismo similar a un prión. La multiplicación de los oligómeros A β o incluso mejor su destrucción o volverlos inofensivos es absolutamente necesaria para influir en el curso de la enfermedad.

- 50 Hasta la fecha, la demencia de Alzheimer se diagnostica principalmente a través de pruebas neuro-psicológicas, mediante experimentos en personas en las que ya se han detectado los síntomas de la demencia. Sin embargo, se sabe que los oligómeros A-beta y las subsiguientes fibrillas y placas pueden desarrollarse en el cerebro de los pacientes hasta 20 años antes de la aparición de los síntomas, y ya pueden haber causado un daño irreversible. Sin embargo, aún no se dispone de posibilidades de diagnosticar la EA antes del inicio de los síntomas.

- 60 Por lo tanto, todavía existe la necesidad de nuevos compuestos (ingredientes activos) que se unan de manera muy específica y con alta afinidad a los oligómeros A β y eviten así su multiplicación. Estos compuestos no deberán mostrar efectos secundarios indeseables, en particular no deberán causar una respuesta inmunitaria. Los compuestos también deberán reconocer los oligómeros A β tóxicos y, por lo tanto, también los pequeños oligómeros de libre difusión en pequeñas concentraciones, destruirlos por completo y/o evitar su multiplicación (similar a un prión).

Además, también existe la necesidad de nuevos compuestos que puedan usarse como sondas para la detección y el marcado de oligómeros A β , en particular si estos oligómeros solo aparecen en bajas concentraciones.

- 5 El documento WO 2013/021353 A1 describe partículas esféricas proteínicas de superficie modificada que pueden comprender una capa de proteína y un grupo de unión amiloide que está unido a la proteína.

El documento WO 01/34631 A2 describe un péptido inhibidor que puede inhibir la formación de hojas beta en el péptido beta amiloide, un péptido inhibidor que puede cambiar la conformación en la proteína priónica PrP, que está asociada con la inhibición de la amiloidosis, así como peptidomiméticos.

10 Kapurniotu A. et al. (Conformational Restriction via Cyclization in sz-Amyloid Peptide Asz(1-28) Leads to an Inhibitor of Asz(1-28) Amyloidogenesis and Cytotoxicity, Chemistry and Biology, Current Biology, Bd. 10, Nr. 2, 1. Februar 2003, páginas 149 a 159) describen un péptido beta amiloide cíclico que se une a Abeta1-40 y previene la agregación amiloide, para el tratamiento y el diagnóstico.

15 Rahimipour S. et al. (In Vitro and Mechanistic Studies of an Anti-Amyloidogenic Self-Assembled Cyclic D,L-alpha-Peptide Architecture, Biopolymers, Bd. 100, Nr. 3, 1. Mai 2013, página 230) describen un péptido D,L-alfa cíclico específico que se une a Abeta.

20 El documento WO 02081505 A2 describe péptidos que se unen al péptido beta amiloide con alta afinidad, un procedimiento para producir dichos péptidos y el uso de dichos péptidos para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

25 Sievers Stuart A. et al (Structure-based design of non-natural amino-acid inhibitors of amyloid fibril formation, Nature, Bd. 475, Nr. 7354, 1. Juli 2011, páginas 96 a 100) describen inhibidores de la formación de fibrillas amiloides.

El documento WO 00/36093 A2 describe procedimientos para producir péptidos cíclicos.

30 El documento DE 10 2012 102998 A1 describe un polímero que comprende al menos dos monómeros que se unen a oligómeros beta amiloides.

El documento DE 10 2012 102999 A1 se refiere a un procedimiento para el tratamiento (*ex vivo*) de sangre, productos sanguíneos y órganos para la prevención de la transmisión de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades basadas en amiloides.

35 El documento WO 2006/087550 A2 se refiere a composiciones y compuestos químicos que comprenden secuencias de péptidos de unión amiloide o análogos y derivados de los mismos.

40 El documento WO 2007/145589 A1 se refiere a nuevos péptidos que pueden unirse a un péptido beta amiloide, donde el átomo de Na de al menos un radical de aminoácido está sustituido por un sustituyente que evita estéricamente la unión adicional del péptido beta amiloide.

El documento WO 2014/177127 A1 se refiere a un agente para la profilaxis y/o el tratamiento del VIH y otras infecciones virales. En particular, el agente contiene al menos un péptido con una secuencia de aminoácidos que es adecuada para la profilaxis de fibrillas asociadas con la enfermedad de Alzheimer y/u homólogos, fragmentos y partes de este péptido.

45 El documento WO 2013/150126 A2 se refiere al tratamiento de sangre, productos sanguíneos y órganos para la eliminación y/o destoxificación de oligómeros beta amiloides.

El documento WO 2005/060683 A2 se refiere al uso de péptidos y derivados de péptidos de 5 a 13 monómeros para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

55 Objeto de la invención

Por tanto, el objeto de la invención es especificar compuestos para

60 A) el tratamiento causal de la enfermedad de Alzheimer, ya que estos compuestos previenen la formación de oligómeros, fibrillas o agregados beta amiloides tóxicos o eliminan o destoxifican oligómeros, fibrillas o agregados existentes.

B) permitir el diagnóstico de la demencia de Alzheimer utilizando estos compuestos como sondas para la obtención de imágenes *in vivo*.

Con esto se incluyen otros objetos, como el uso de los compuestos en medicina.

El objeto de la invención también es proporcionar nuevos péptidos, preferentemente derivados del D-péptido D-enantiomérico D3, que tengan propiedades más eficaces en comparación con D3. Entre sus propiedades figuran la alta afinidad y la alta especificidad de unión hacia especies A-beta, la inhibición de la formación de fibrillas A-beta, la inhibición de la citotoxicidad A-beta, la eliminación o destoxificación de oligómeros, fibrillas y otros agregados A-beta, la conversión de fibrillas, protofibrillas u oligómeros A-beta en especies no tóxicas y no amiloidógenas.

10 A continuación, los términos "A-beta", "beta amiloide", "β- amiloide" y "Aβ" se utilizan como sinónimos entre sí.

Solución del objeto

El objeto se consigue con el péptido, el kit y la composición según las reivindicaciones principales y los procedimientos y usos según las reivindicaciones dependientes. Las configuraciones ventajosas para ello resultan de las reivindicaciones que se refieren a las mismas.

Descripción de la invención

20 [1] El péptido según la invención es un

péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos que se une a especies beta amiloides y en el que la carga negativa del grupo carboxilo presente habitualmente en el C-terminal libre se ha eliminado mediante modificación, de modo que no haya carga o sea positiva, con un grupo amida de ácido (grupo CONH2) presente en el C-terminal libre en lugar del grupo carboxilo, que contiene al menos un monómero con una secuencia de aminoácidos, seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6.

Un péptido según la descripción es un péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos que se une a especies beta amiloides y en el que esta propiedad se retiene o mejora, y en el que el C-terminal libre, es decir, el grupo carboxilo del C-terminal, está modificado, de tal manera que el C-terminal no tenga carga negativa, sino que sea neutro o tenga una o más cargas positivas.

Los péptidos según la invención también incluyen aquellos péptidos que comprenden al menos un péptido que se une a una especie beta amiloide, donde el péptido presenta una secuencia lineal de aminoácidos que le permite unirse a A-beta y esta propiedad se retiene o mejora, donde el péptido está presente en forma ciclada mediante la unión covalente de sus dos extremos.

Los péptidos según la invención consiguen adicionalmente ventajosamente el objetivo de proporcionar un péptido sin carga negativa en el C-terminal. Ventajosamente, esto tiene el efecto de que se puede unir a la molécula diana con una mayor afinidad que un péptido que tiene un grupo carboxilo en el C-terminal libre. Los péptidos con grupos carboxilo libres no modificados tienen una carga negativa en este extremo en el estado fisiológico.

En una forma de realización de la invención, los péptidos según la invención se encuentran en estado fisiológico, en particular a pH 6-8, en particular 6,5-7,5, en particular a pH 6,0, pH 6,1, pH 6,2, pH 6,3, pH 6,4, pH 6,5, pH 6,6, pH 6,7, pH 6,8, pH 6,9, pH 7,0, pH 7,1, pH 7,2, pH 7,3, pH 7,4, pH 7,5, pH 7,6, pH 7,7, pH 7,8, pH 7,9 o pH 8,0 modificado de tal manera que el C-terminal no tenga carga negativa, sino que sea neutro o tenga una o más cargas positivas.

Según la invención, el péptido está caracterizado porque en el C-terminal libre existe un grupo amida de ácido en lugar del grupo carboxilo. En lugar del grupo carboxilo (grupo -COOH), se dispone un grupo amida de ácido (grupo -CONH2) en el C-terminal.

Por tanto, el péptido se amida de forma especialmente ventajosa en el C-terminal libre.

De esta manera, el objeto adicional se logra de una manera particularmente ventajosa en la que existe un péptido sin un exceso de carga negativa, el cual puede unirse con más afinidad a la molécula diana y puede obtenerse de manera sencilla.

En una realización adicional de la divulgación (no según la invención), los grupos adicionales siguientes están presentes en lugar del grupo carboxilo: COH, COCl, COBr, CONH-alquilo-radical, CONH-alquilo-amina-radical (carga neta positiva), etc., pero sin limitarse a estos, siempre que se siga la enseñanza técnica de la reivindicación principal.

En particular, un péptido (no según la invención) que contiene una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1

(RD2), SEQ ID NO: 2 (D3), SEQ ID NO: 3 (DB3), SEQ ID NO: 9 (D3r), SEQ ID NO: 10 (D3p), SEQ ID NO: 11 (D3a) y/o SEQ ID NO: 12 (D3p2k) y/u homólogos, fragmentos y partes de los mismos. Estos péptidos (no según la invención) son unidades de sustancia (a menudo denominadas a continuación «monómeros») que se unen a especies beta amiloides.

5

En una variante de la invención, se usan tales monómeros que se unen a un monómero A-beta y/o a oligómeros A-beta y/o a fibrillas del péptido A-beta con una constante de disociación (valor K_D) de un máximo de 500 μ M, preferentemente 250, 100, 50 μ M, con especial preferencia 25, 10, 6 μ M, en particular 4, 2, 1 μ M o sub- μ M.

10 El objetivo se logra en particular mediante polímeros que consisten en dos o más de los monómeros o péptidos mencionados anteriormente según la invención, en particular mediante un dímero según la invención de SEQ ID NO: 4 (RD2D3), SEQ ID NO: 5 (D3RD2) y/o SEQ ID NO: 6 (D3D3). Los dímeros están formados por dos unidades monoméricas, cada una de las cuales se une a especies beta amiloides.

15 Los polímeros formados a partir de monómeros según la invención, que a su vez se unen a oligómeros A-beta, muestran efectos claros y sinérgicos con respecto a su selectividad y afinidad por los oligómeros A-beta en comparación con los monómeros. En otras palabras: Los polímeros, en particular los dímeros, seleccionados de entre el grupo de SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y/o SEQ ID NO: 6 son superiores a los monómeros a partir de los cuales se construyen. Los efectos sinérgicos en el sentido de la presente invención son efectos que muestran una mayor selectividad y/o afinidad con respecto a las especies A-beta relevantes, en particular el valor K_D con respecto a la unión a especies A-beta en comparación con las unidades de monómero individuales.

20 En otra configuración particularmente ventajosa de la invención, los polímeros y en particular los dímeros en los experimentos con modelos animales (*in vitro* o *in vivo*) actúan ventajosamente de forma más eficiente que los monómeros.

En una variante de la invención, se utilizan aquellos polímeros que se unen a un monómero A-beta y/o oligómero A-beta y/o fibrillas de péptidos A-beta con una constante de disociación (valor K_D) de como máximo 500 μ M, preferentemente 250, 100, 50 μ M, con particular preferencia 25, 10, 1 μ M, con particular preferencia con una constante de disociación (valor K_D) de como máximo 500 nM, 250, 100, 50, con particular preferencia 25, 10, 1 nM, 500 pM, 100, 50, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 pM hasta sub-pM, donde se puede asumir cualquier valor intermedio.

En una configuración de la invención, la afinidad se define mediante la constante de disociación (valor K_D).

35 La constante de disociación (valor K_D) del péptido según la invención se reduce ventajosamente en una realización ventajosa de la invención en comparación con péptidos de unión lineales en los que el extremo C libre, es decir, el grupo carboxilo del C-terminal, presenta una carga negativa. A esto se asocian propiedades mejoradas de los péptidos según la invención, tales como una mayor afinidad de unión y una mayor eficacia de degradación y/o prevención de la formación de especies beta amiloides tóxicas. Esto se aplica en particular, pero no exclusivamente, a un valor K_D más bajo en el sitio de alta afinidad del A-beta (monómero, oligómero y fibrillas).

Los fragmentos y las partes muestran un efecto similar o idéntico al de los péptidos según la invención.

45 En una variante de la descripción, los péptidos según la invención y los no según la invención, en particular los péptidos según SEQ ID NO: 1 (no según la invención), SEQ ID NO: 2 (no según la invención), SEQ ID NO: 3 (no según la invención), SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 (no según la invención), SEQ ID NO: 8 (no según la invención), SEQ ID NO: 9 (no según la invención), SEQ ID NO: 10 (no según la invención), SEQ ID NO: 11 (no según la invención) y/o SEQ ID NO: 12 (no según la invención) y sus homólogos (no según la invención), fragmentos (no según la invención) o partes de los mismos (no según la invención) consisten sustancialmente, preferentemente en al menos un 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, con particular preferencia un 85 %, 90 %, 95 %, en particular en un 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % en D-aminoácidos.

Un polímero en el sentido de la invención se forma a partir de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más monómeros, que de por sí se unen a especies beta amiloides, particularmente oligómeros.

55

El polímero se forma en particular a partir de monómeros seleccionados de entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 12.

En una realización de la divulgación, el polímero se puede seleccionar de entre el grupo de SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y/o SEQ ID NO: 6.

Los péptidos según la invención según SEQ ID NO: 4, 5 y 6, así como los péptidos no según la invención de la SEQ ID 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 se componen de aminoácidos D-enantioméricos en una realización.

Los péptidos según la invención según SEQ ID NO: 4, 5 y 6, así como los péptidos no según la invención de la SEQ ID: 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 se proporcionan con un grupo amida de ácido en el C-terminal libre. Los monómeros, por ejemplo D3, DB3 o RD2 según SEQ ID NO: 1-3, o D3r, Drp, D3a o D3(p2k) según SEQ ID NO: 9-12 se amidan en la posición 12 del C-terminal libre. Los polímeros como RD2D3, D3RD2, D3D3, RD2RD2 o DB3DB3 se amidan en la posición 24 en el C-terminal libre.

Los péptidos según la invención según SEQ ID NO: 4, 5 y 6, así como los péptidos no según la invención de la SEQ ID: 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 en una configuración adicional, están covalentemente unidos entre sí en el C-terminal-terminal libre con el extremo N-terminal libre y están, por tanto, presentes en una forma correspondientemente ciclada. El cierre del anillo también tiene el efecto ventajoso de que el grupo carboxilo ya no está presente en el C-terminal libre.

El péptido según la invención presenta ventajosamente una secuencia de aminoácidos en la que se produce la ciclación de la molécula lineal, p. ej., mediante unión covalente del primer al último aminoácido, p. ej., a través de una reacción de condensación. Por supuesto, hay otras formas de ciclación, p. ej., uniendo otros aminoácidos. La unión del segundo aminoácido con el último aminoácido se menciona solo a modo de ejemplo. Cualquier otra unión posible es igualmente concebible.

En caso de que el primer y el último aminoácido del péptido estén unidos, se propicia de forma ventajosa que no haya extremos abiertos en la cadena peptídica (secuencia de aminoácidos).

Esta medida también tiene el efecto de que todos los péptidos con secuencias de aminoácidos lineales que, después de la ciclación, dan como resultado la misma secuencia de aminoácidos indistinguible, son idénticos en este sentido.

Ejemplo: La secuencia lineal de aminoácidos del péptido D3 conocido es rprrlthnrr. El péptido ciclado correspondiente "cD3", unido por un enlace amida entre el grupo amino N-terminal y el grupo carboxilo C-terminal, ya no se puede distinguir de los péptidos ciclados prtrlhthnrr, rtrlhthnrrp, trlhthnrrpr, rlhthnrrprt, lhthnrrprtr, hthnrrprtrl, thnrrprtrlh, hnnrrprtrlh, nrrprtrlhth, nrrprtrlhth, o rrrprtrlhthn. El cD3 también puede derivarse de cada una de estas secuencias.

Además, los efectos de una mayor afinidad y eficacia reivindicados según la invención se producen frente a un péptido de unión, preferentemente incluso frente a cualquier péptido de unión lineal, del que se pueda derivar un péptido ciclado o modificado de otra manera.

La fabricación de péptidos ciclados también es estado de la técnica y se puede llevar a cabo, por ejemplo, según el procedimiento descrito en el documento DE 102005049537 A1.

La ciclación a través del primer y último aminoácido del péptido tiene el efecto ventajoso de que ya no hay extremos "abiertos" de la cadena del péptido, que a menudo son puntos de ataque para las actividades de degradación de péptidos en células, animales o seres humanos, p. ej., por aminopeptidasas y carboxipeptidasas.

Por medio de monómeros ciclados, como, por ejemplo, cD3, cRD2 y así sucesivamente o polímeros ciclados, tales como cRD2D3, cD3D3, cDB3DB3 y así sucesivamente, también se consigue ventajosamente que estos péptidos ciclados como efecto secundario puedan no degradarse fácilmente, aunque este efecto no es decisivo. Además, como se ha mostrado, también solo se aplica al caso de una ciclación de cabeza a cola o de cola a cabeza, en la que ambos extremos del péptido lineal se unen entre sí.

En una forma de realización adicional, los polímeros se construyen a partir de monómeros idénticos, tales como D3, RD2 o DB3 o de una combinación de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 monómeros distintos y diferentes mencionados anteriormente, como los denominados polímeros de combinación. Los monómeros también pueden ser parcialmente idénticos. El número de monómeros idénticos en los polímeros combinados se puede seleccionar libremente.

Los polímeros se pueden producir, por ejemplo, mediante síntesis química o síntesis de péptidos.

En una realización de la invención, los monómeros están unidos covalentemente entre sí. En una realización adicional, los monómeros no están unidos covalentemente entre sí.

Para los fines de la invención, está presente una conexión o enlace covalente de las unidades de monómero si los péptidos están unidos linealmente entre sí cabeza a cabeza, cola a cola o cabeza a cabeza, con o sin enlazadores o grupos enlazadores en el medio.

Un enlace no covalente en el sentido de la invención está presente si los monómeros están unidos entre sí, por

ejemplo, a través de biotina y estreptavidina, en particular tetrámero de estreptavidina.

En una variante de la presente invención, los monómeros pueden estar unidos linealmente entre sí, en particular como se describió anteriormente. En otra variante, los monómeros están unidos entre sí para formar el polímero según la invención.

Según la invención, un polímero ramificado puede ser un dendrímero en el que los monómeros están unidos entre sí de forma covalente o no covalente.

10 Alternativamente, los monómeros también se pueden unir a una molécula de plataforma (como PEG o azúcar) y así formar un polímero ramificado.

Alternativamente, son posibles combinaciones de estas opciones.

15 Los monómeros y polímeros se denominan a continuación péptidos según la invención.

Una variante no según la invención de la descripción es un péptido con la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 12 y/u homólogos de las mismas con una identidad del 50 %.

20 Para los fines de la invención, «secuencias homólogas» u «homólogos» significa que una secuencia de aminoácidos tiene una identidad con una de las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente de los monómeros de al menos un 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 %, En lugar del término "identidad", se usan los términos "homólogo" u "homología" como sinónimos en esta descripción. La identidad entre dos secuencias de ácidos nucleicos o secuencias de polipéptidos se calcula por comparación utilizando el programa BESTFIT basado en el algoritmo de Smith, T.F. y Waterman, M.S. (Adv. Appl. Math. 2: 482-489 (1981)) con los siguientes parámetros para los aminoácidos: Gap creation penalty: 8 y Gap extension penalty: 2; y el siguiente parámetro para los ácidos nucleicos: Gap creation penalty: 50 y Gap extension penalty: 3. Preferentemente, la identidad entre dos secuencias de ácido nucleico o secuencias de polipéptidos se define por la identidad de la secuencia de ácido nucleico/secuencia de polipéptidos en toda la longitud de la secuencia, según se calcula por comparación utilizando el programa GAP basado en el algoritmo de Needleman, S.B. y Wunsch, C.D. (J. Mol. Biol. 48: 443 -453) con los siguientes parámetros para los aminoácidos: Gap creation penalty: 8 y Gap extension penalty: 2; y los siguientes parámetros para los ácidos nucleicos: Gap creation penalty: 50 y Gap extension penalty: 3.

35 Para los fines de la presente invención, dos secuencias de aminoácidos son idénticas si tienen la misma secuencia de aminoácidos.

40 En una variante, los homólogos se refieren las secuencias retro-inversas correspondientes de los monómeros mencionados anteriormente. Según la invención, el término "secuencia retro-inversa" denota una secuencia de aminoácidos que está compuesta de aminoácidos en forma enantiomérica (inversa: la quiralidad del átomo de alfa-C está invertida) y en la que también se ha invertido el orden de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos original (retro = hacia atrás).

45 En otra variante, los péptidos según la invención se unen a partes del péptido β -amiloide.

En otra variante no según la invención, los péptidos de la descripción presentan secuencias que difieren de las secuencias especificadas en hasta tres aminoácidos

50 Además, las secuencias que contienen las secuencias mencionadas anteriormente también se usan como péptidos.

En otra variante no según la invención, los D-péptidos presentan fragmentos de las secuencias mencionadas o presentan secuencias homólogas a las secuencias mencionadas anteriormente.

55 Según la invención, es un péptido para uso en medicina, preferiblemente para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En una realización de la presente invención, el péptido consiste esencialmente en D-aminoácidos.

60 Para los fines de la presente invención, el término «esencialmente a partir de aminoácidos D-enantioméricos» significa que los monómeros a usar según la invención están al menos en un 50 %, 60 %, preferiblemente 75 %, 80 %, particularmente preferiblemente 85 %, 90 %, 95 %, en particular 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % formados por aminoácidos D-enantioméricos.

En una realización de la presente invención, los péptidos monómeros según la invención son derivados del D-péptido D-enantiomérico D3. Los derivados en el sentido de la descripción son secuencias peptídicas derivadas de D3 que se logran mediante uno de los siguientes tres procedimientos:

- 5 a) Cambio del orden y/o el número de unidades de aminoácidos en D3. Solo se usan los aminoácidos que están presentes en la secuencia D3.
- b) Supresión de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 aminoácidos de la secuencia D3.
- 10 c) Intercambio de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 aminoácidos con otros aminoácidos, preferiblemente D-enantiómeros.

10 En una variante adicional, es un péptido según la invención para inhibir la formación de fibrillas de oligómeros beta amiloides. Los péptidos según la invención destoxifican los oligómeros o polímeros A β formados a partir de ellos, así como las fibrillas, uniéndolos y convirtiéndolos en compuestos no tóxicos. Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un procedimiento para la destoxicación de los oligómeros A β , polímeros o fibrillas formados a

15 partir de los mismos.

En una realización, la invención también se refiere a péptidos según la invención que están unidos a una sustancia adicional.

20 En el contexto de la invención, el enlace es un enlace químico como se define en Römpf Chemie Lexikon, 9. Auflage, Band 1, Seite 650 ff, Georg Thieme Verlag Stuttgart, preferiblemente un enlace de valencia principal, en particular un enlace covalente.

En una variante, las sustancias son medicamentos o principios activos, definidos de conformidad con la Ley de
25 medicamentos §2 o §4 (19), a partir de septiembre de 2012. En una alternativa, los principios activos son sustancias terapéuticamente activas que se usan como principios activos. Se prefieren los antiinflamatorios.

En otra variante, las sustancias son compuestos que potencian la acción de los péptidos.

30 En una alternativa, tales compuestos son aminopirazol y/o derivados del aminopirazol. Los derivados de aminopirazol en el sentido de la invención son ácido 3-aminopirazol-5-carboxílico o ácido 3-nitropirazol-5-carboxílico y todos los descendientes en los que el grupo CH heterocíclico ha sido reemplazado por -CR- o -N- u -O- o -S-, y todos los dímeros peptídicos, trímeros o tetrameros derivados de los mismos, preferiblemente trímeros de aminopirazol.

35 En una alternativa adicional, estos son compuestos que mejoran la solubilidad de los péptidos y/o el paso a través de la barrera hematoencefálica.

En una alternativa, los péptidos según la invención tienen cualquier combinación de al menos dos o más características de las variantes, diseños y/o alternativas descritas anteriormente.

40 En el contexto de la invención también se reconoció que los péptidos modificados según la invención se unen en comparación con los péptidos de unión lineales en los que el C-terminal libre, es decir, el grupo carboxilo C-terminal, no está modificado y, por lo tanto, lleva una carga negativa, con una mayor afinidad a las especies Abeta y en particular también a los oligómeros beta amiloides particularmente tóxicos. Esto significa que el valor de K_D de los péptidos
45 según la invención es más bajo que el de los péptidos lineales en los que el C-terminal libre, es decir, el grupo carboxilo C-terminal, no está modificado y, por tanto, lleva una carga negativa.

En otra realización preferida de la invención, la afinidad de la unión de los péptidos modificados según la invención sin carga negativa en el C-terminal en comparación con los péptidos lineales con carga negativa en el C-terminal, pero
50 por lo demás con la misma secuencia de aminoácidos, se incrementa en un 1 %, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, en particular un 10 %, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, en particular un 100 %, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119,
55 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, en particular un 200 %, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231,
60 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, en particular un 300 %, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319,

320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, en particular un 400 %, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 5 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, más ventajosamente un 500 %, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 10 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, en particular ventajosamente un 600 %, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 15 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, en particular ventajosamente un 700 %, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 20 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, incluso en particular ventajosamente un 800 %, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 25 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, incluso en particular ventajosamente un 900 %, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 30 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, o incluso en un 1000 %, o incluso en un 10000 % o incluso hasta en un 100000 % o un 1000000 %, donde es posible asumir cualquier valor intermedio. Esto se aplica en particular, pero no exclusivamente, a una afinidad más alta en el sitio de alta afinidad del A-beta (monómero, oligómero, fibrillas etc.).

35 Esto se indica mediante un valor K_D convenientemente reducido. El valor de K_D como medida de la afinidad de la unión del péptido modificado según la invención a las especies beta amiloides y en particular al oligómero beta amiloide, en comparación con un péptido de unión lineal con carga negativa en el extremo C libre, es rebajado en un 1 %, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, en particular en un 10 %, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 40 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, en particular en un 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, 99,5 %, 99,6, 99,7, 99,8, 99,9 hasta en un 99,99 o incluso en un 99,999 %, donde puede asumirse cualquier valor intermedio.

45 Estos valores K_D más bajos se refieren de forma ventajosa particularmente, pero no exclusivamente, al sitio de alta afinidad de las especie A-beta (monómero, oligómero, fibrillas, etc.).

Los péptidos modificados según la invención se pueden utilizar, por tanto, de forma más eficaz como sondas para fines de diagnóstico que los péptidos de unión lineales con una carga negativa en el extremo C-terminal libre, en particular también de forma más eficaz que sus homólogos peptídicos lineales con una secuencia de aminoácidos idéntica.

En particular, sin embargo, también se pueden usar más eficazmente como agentes terapéuticos que los péptidos de unión lineales con una carga negativa en el extremo C-terminal libre, en particular más eficazmente que sus homólogos 55 peptídicos lineales con una secuencia de aminoácidos idéntica.

En una comparación directa entre un péptido modificado según la invención y un péptido con carga negativa en el C-terminal, el péptido según la invención se comporta mejor en términos de afinidad y eficacia.

60 En el contexto de la invención, se reconoció además que dichos péptidos modificados según la invención en comparación con péptidos con una carga negativa en el extremo C-terminal libre, pero en particular en comparación con sus homólogos peptídicos con una secuencia de aminoácidos idéntica, además también previenen con una mayor efectividad o eficacia la formación de oligómeros beta amiloides particularmente tóxicos o propician su destrucción y/o

destoxificación. Esta eficacia se aumenta en particular en un 1 %, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, en particular en un 10 %, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,9, de forma particularmente ventajosa incluso en un 100 %.

Para ello se fracciona, por ejemplo, una muestra con los distintos conformeros A β en el caso más sencillo. En cada fracción, distintos conformeros, como monómeros, oligómeros, fibrillas o agregados superiores, se enriquecen según la etapa de fraccionamiento y luego se pueden determinar con precisión.

10

El término «determinado exactamente» incluye una etapa de calibración en el fraccionamiento por moléculas de tipo y comportamiento conocidos. Después del fraccionamiento, solo queda presente un tipo de conformeros A β en cada fracción, p. ej., monómeros, oligómeros o fibrillas, etc.

15 Por ejemplo, en una centrifugación en gradiente de densidad como etapa de fraccionamiento, los conformeros se separan según su valor *s* o coeficiente de sedimentación. Las moléculas de distintos tamaños pueden tener un radio hidrodinámico idéntico, pero aun así tienen distintos valores *s* y a continuación también se separan. Mediante calibración con moléculas de valor *s* conocido, los conformeros A β obtenidos mediante centrifugación en gradiente de densidad se determinan exactamente según su valor *s*.

20

A continuación, las fracciones obtenidas se tratan con y sin principio activo y, por ejemplo, se determinan mediante RP-HPLC. De esta manera se puede determinar la eficacia del principio activo.

A continuación se presenta otro procedimiento. La denominada prueba QIAD (del inglés *quantitative determination of interference with A β aggregate size distribution*) puede utilizarse para el análisis cuantitativo de sustancias activas. El procedimiento para el análisis cuantitativo de la influencia de un principio activo en la distribución del tamaño de partícula de péptidos amiloides y/o proteínas en una muestra presenta las etapas siguientes. Primero, se permite la adición de A-Beta en condiciones controladas, de modo que se formen distintos agregados A-Beta. Las condiciones se eligen de modo que se forme un número particularmente grande de oligómeros A-beta pequeños, en particular citotóxicos. A continuación se añade a la muestra la sustancia a examinar, por ejemplo, uno de los péptidos modificados según la invención. El principio activo cambia la distribución del tamaño de partículas en la muestra. Este cambio se determina cuantitativamente. El cambio es una medida de la reducción o incluso la eliminación completa de determinadas especies tóxicas de un determinado tamaño de partícula. El procedimiento QIAD mide el aumento o la disminución de los agregados A-beta de un tamaño de partícula determinado. Si bien inicialmente estaban presentes en la muestra algunos agregados A-beta con un cierto tamaño, estos se reducen o incluso se eliminan por completo bajo la influencia del principio activo. Otros tamaños de partículas aumentan o permanecen constantes bajo la influencia del principio activo. Las partículas que se forman a partir de A-beta se separan preferiblemente entre sí según su radio hidrodinámico de las partículas. Ventajosamente, esto tiene el efecto de que se obtiene una pluralidad de fracciones a partir de la muestra. En las fracciones, las partículas están enriquecidas en péptidos amiloides y/o proteínas con un cierto tamaño agregado. Esta separación de las partículas se puede realizar mediante centrifugación en gradiente de densidad. Las fracciones se separan espacialmente unas de otras, p. ej., mediante pipeteado. Finalmente, la concentración de A-beta en la fracción respectiva se determina mediante una desnaturalización completa de la especie A-beta durante una (RP-) HPLC de fase inversa realizada después del fraccionamiento. Los agregados se pueden desnaturalizar completamente, por ejemplo, con acetonitrilo al 30 % y ácido trifluoroacético al 0,1 % a una temperatura de columna de 80 °C y separarse en una columna C8 según la hidrofobicidad. La elución de A-beta se detecta mediante absorción UV a 215 nm. La integración del área de pico se puede realizar mediante el software Agilent Chemstation. La compensación de los valores resultantes con una calibración realizada previamente permite el cálculo de la concentración de A-beta en la fracción respectiva. Para cada fracción, el valor medio de varios, por ejemplo, seis, experimentos realizados independientemente entre sí se puede calcular con la desviación estándar resultante. La ventaja del análisis mediante HPLC es que se puede detectar con mucha sensibilidad (por ejemplo, aproximadamente 20 nM o 1,8 ng de A β 1-42) y cuantificarse de forma fiable, independientemente del estado de agregación y del disolvente. Una ventaja decisiva del procedimiento es el acoplamiento de la centrifugación en gradiente de densidad y la HPLC de fase inversa, que también permite una cuantificación fiable de los oligómeros A β .

55 El efecto según la invención de una mayor eficacia de la eliminación (o formación) de especies beta amiloides y en particular de oligómeros beta amiloides puede producirse con uno de estos procedimientos, pero no exclusivamente con estos procedimientos.

En una realización particularmente preferida de la invención, los efectos mencionados de mayor afinidad y eficacia de la eliminación y destoxificación (o formación) también ocurren *in vitro* y/o *in vivo*.

60

La invención también se refiere a un péptido según la invención para unirse a péptidos A β agregados.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para producir el péptido según la invención mediante síntesis de péptidos, como es conocido por el experto en la materia, por ejemplo, procedimientos de síntesis orgánica para cualquier compuesto de bajo peso molecular (lowmolecular weight compounds).

- 5 La invención también se refiere a una composición que contiene el péptido según la invención, en particular para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

La presente invención se refiere además a una composición que comprende el péptido según la invención, en particular para prevenir oligómeros A β tóxicos, o para destruir polímeros o fibrillas formadas a partir de los mismos.

10

La «composición» según la invención puede ser, p. ej., una vacuna, un medicamento (p. ej., en forma de comprimido), una solución inyectable, un alimento o suplemento alimenticio, que contiene el péptido según la invención en una formulación que se preparará en base al conocimiento especializado.

- 15 La presente invención también se refiere a un kit que contiene el péptido según la invención.

En dicho kit, los péptidos pueden estar empaquetados en contenedores en su caso con/en tampones o soluciones. Todos los componentes del kit pueden envasarse en el mismo envase o por separado. El kit también puede contener instrucciones para su uso. Dicho kit puede, por ejemplo, contener los péptidos según la invención en una ampolla para inyección con un tapón y/o tabique. También puede contener una jeringa desechable, por ejemplo.

20

Otro objeto de la presente invención es el uso del péptido según la invención como una sonda para la identificación, determinación cualitativa y/o cuantitativa de oligómeros beta amiloides o fibrillas.

- 25 La presente invención también se refiere a una sonda que contiene el péptido según la invención para la identificación, determinación cualitativa y/o cuantitativa de oligómeros beta amiloides.

Tales sondas son de gran importancia porque permiten el diagnóstico precoz de la EA. Con un diagnóstico temprano, la enfermedad se puede contrarrestar en una etapa muy temprana.

30

Dichas sondas moleculares contienen el polímero según la invención y opcionalmente colorantes, colorantes fluorescentes, isótopos radiactivos (PET, etc.), gadolinio (MRI), así como sustancias alternativas adecuadas para obtener imágenes de las sondas y pueden, p. ej., inyectarse por vía intravenosa al paciente. Después de pasar a través de la barrera hematoencefálica, las sondas pueden unirse a oligómeros y/o placas A β . Los oligómeros y/o placas A β marcadas de esta manera pueden hacerse visibles mediante procedimientos de formación de imágenes tales como, p. ej., SPECT, TEP, TAC, RMN, espectroscopía de RM de protones.

35

Además, la invención también se refiere al péptido para su uso en la prevención de oligómeros beta amiloides y/o agregados de péptidos beta amiloides y/o fibrillas beta amiloides.

40

Según la invención, también es un péptido para su uso en la destoxificación de oligómeros y/o agregados beta amiloides tóxicos. En particular, se usa para unirse a los oligómeros y/o agregados beta amiloides y, por lo tanto, para formar agregados amorfos no tóxicos.

- 45 Se ha reconocido que, si los oligómeros A β ya están presentes, el objetivo del tratamiento debe ser abordarlos con sustancias que tengan la mayor afinidad posible por el A-beta. De hecho, la afinidad no puede ser suficientemente alta y la constante de disociación correspondiente del péptido según la invención está entonces en el intervalo sub- μ M, incluso mejor en el intervalo pM o incluso inferior.

- 50 Se reconoció en el contexto de la invención que los monómeros A-beta, como componentes básicos de los oligómeros A-beta, se forman constantemente en el cuerpo humano y presumiblemente no son tóxicos per se. Incluso existe la posibilidad de que los monómeros tengan una función positiva. Los monómeros A-beta pueden acumularse de forma aleatoria según su concentración. La concentración depende de su velocidad de formación y descomposición en el cuerpo. Si la concentración de monómeros A-beta en el cuerpo aumenta con la edad, el ensamblaje espontáneo de los monómeros en oligómeros A-beta es cada vez más probable. Los oligómeros A β resultantes podrían multiplicarse de manera análoga a los priones y finalmente conducir a la enfermedad de Alzheimer.

55

Una diferencia importante entre prevención y tratamiento o incluso cura de la EA se da en el hecho de que la prevención posiblemente ya pueda lograrse evitando la formación de los primeros oligómeros A β . Para ello son suficientes unos pocos ligandos A-beta, que no son muy afines y selectivos con respecto a los oligómeros A-beta.

60

La formación de los oligómeros A-beta a partir de muchos monómeros es una reacción de orden alto y, por lo tanto, altamente dependiente de la concentración de monómeros A-beta. Por lo tanto, incluso una pequeña reducción en la

concentración activa de monómero A β evita la formación de los primeros oligómeros A β . Los conceptos y sustancias del tratamiento más bien preventivo actualmente en desarrollo se basan presumiblemente en este mecanismo.

5 Sin embargo, se puede suponer una situación completamente diferente en el tratamiento de la EA. Aquí hay oligómeros A β o posiblemente polímeros o fibrillas incluso más grandes que se multiplican a través de mecanismos similares a los priones. Sin embargo, este aumento es una reacción de bajo orden y apenas depende de la concentración de monómeros A β .

10 Entonces, si ya han surgido oligómeros A-beta, el objetivo de un tratamiento deberá ser abordarlos con sustancias que tengan la mayor afinidad posible por los oligómeros A β y/o eliminarlos de manera particularmente eficaz y/o impedir la formación de manera particularmente eficaz o detoxificarlos. La constante de disociación correspondiente debería estar en el intervalo de pM, sub- μ M o nM o incluso inferior.

15 Estos requisitos con respecto al diagnóstico (sondas) y el tratamiento de la demencia de Alzheimer se cumplen con la provisión de los péptidos según la invención. Los péptidos según la invención se unen a las especies A-beta y en particular a los oligómeros A-beta con una constante de disociación correspondientemente baja para fines de diagnóstico y/o tratamiento. Otro objeto es el uso de los péptidos según la invención como agente terapéutico para la enfermedad de Alzheimer.

20 Los péptidos según la invención se unen particularmente bien a los oligómeros A β , en particular a los oligómeros A β solubles.

25 Una unión particularmente fuerte de los péptidos según la invención a las moléculas objetivo se produce por una alta especificidad y/o afinidad por la molécula objetivo de los péptidos según la invención. Los complejos formados también tienen una constante de disociación baja (valor K_D).

30 Usando la prueba de tioflavina T fue posible demostrar que los péptidos de la descripción inhiben de manera muy eficiente la formación de fibrillas de péptidos A β , en particular de la SEQ ID NO: 1 - 12, especialmente los péptidos según la invención de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:6, pero también los péptidos no según la invención de la SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8.

Otro objeto es el uso de los péptidos según la invención en un procedimiento para el tratamiento (*in vitro*, *ex vivo*) de sangre, productos sanguíneos y/u órganos, caracterizado porque se toman sangre, productos sanguíneos y/u órganos del cuerpo humano o animal y los oligómeros A(amiloide) β se eliminan y/o detoxifican.

35 Ejemplos de realización:

La invención se explica con más detalle a continuación sobre la base de ejemplos de realización y las figuras adjuntas, sin que la invención esté limitada por ello.

40 Muestran:

- Figura 1: Prueba de reconocimiento de objetos
- Figura 2: RotaRod
- 45 Figura 3: SHIRPA
- Figura 4: Laberinto acuático de Morris
- Figura 5: Reconocimiento de objetos
- Figura 6: Valor K_D (cinética) del monómero beta amiloide
- Figura 7: Valor K_D (cinética) del oligómero beta amiloide
- 50 Figura 8: Valor K_D (cinética) de las fibrillas beta amiloides

Se utilizó la prueba QIAD (del inglés *quantitative determination of interference with A β aggregate size distribution*) para el análisis cuantitativo de sustancias activas. El procedimiento para el análisis cuantitativo de la influencia de un principio activo en la distribución del tamaño de partícula de péptidos amiloides y/o proteínas en una muestra presenta 55 las etapas siguientes: Primero, se permite la adición de A-Beta en condiciones controladas, de modo que se formen distintos agregados A-Beta. Para el resultado resumido en la Tabla 1, se eligieron las condiciones de modo que se formaran en particular muchos oligómeros A-beta pequeños particularmente citotóxicos. A continuación se añade a la muestra la sustancia a examinar, por ejemplo, uno de los péptidos D-enantioméricos mencionados con anterioridad. El principio activo cambia la distribución del tamaño de partículas en la muestra. Este cambio se determina 60 cuantitativamente. El cambio es una medida de la reducción o incluso la eliminación completa de determinadas especies tóxicas de un determinado tamaño de partícula. El procedimiento QIAD también mide el aumento o la disminución de los agregados A-beta de un tamaño de partícula determinado. Si bien inicialmente estaban presentes en la muestra algunos agregados A-beta con un cierto tamaño, estos se reducen o incluso se eliminan por completo

- bajo la influencia del principio activo. Otros tamaños de partículas aumentan o permanecen constantes bajo la influencia del principio activo. Las partículas que se forman a partir de A-beta se separan preferiblemente entre sí según su radio hidrodinámico de las partículas. Ventajosamente, esto tiene el efecto de que se obtiene una pluralidad de fracciones a partir de la muestra. En las fracciones, las partículas están enriquecidas en péptidos amiloides y/o proteínas con un cierto tamaño agregado. Esta separación de las partículas se puede realizar mediante centrifugación en gradiente de densidad. Las fracciones se separan espacialmente unas de otras, p ej., mediante pipeteado. Finalmente, la concentración de A-beta en la fracción respectiva se determina mediante una desnaturalización completa de la especie A-beta durante una (RP-) HPLC de fase inversa realizada después del fraccionamiento. Los agregados se pueden desnaturalizar completamente, por ejemplo, con acetonitrilo al 30 % y ácido trifluoroacético al 0,1 % a una temperatura de columna de 80 °C y separarse en una columna C8 según la hidrofobicidad. La elución de A-beta se detecta mediante absorción UV a 215 nm. La integración del área de pico se puede realizar mediante el software Agilent Chemstation. La compensación de los valores resultantes con la calibración realizada previamente permite el cálculo de la concentración de A-beta en la fracción respectiva. Para cada fracción, el valor medio de varios, por ejemplo, seis, experimentos realizados independientemente entre sí se debe calcular con la desviación estándar resultante. La ventaja del análisis mediante HPLC es que se puede detectar con mucha sensibilidad (por ejemplo, aproximadamente 20 nM o 1,8 ng de Aβ1-42) y cuantificarse de forma fiable, independientemente del estado de agregación y del disolvente. Una ventaja decisiva del procedimiento es el acoplamiento de la centrifugación en gradiente de densidad y la HPLC de fase inversa, que también permite una cuantificación fiable de los oligómeros Aβ.
- Los resultados se resumen en la Tabla 1. Demuestran que las sustancias son particularmente eficaces para eliminar oligómeros.

Tabla 1 (* = no según la invención):

	Sustancia/péptido	QIAD: Reducción de oligómeros en %
1	D3 amidado*	56
2	RD2 amidado*	78
3	D3D3 amidado	98
4	RD2RD2 amidado*	97
5	RD2D3 amidado	100
6	D3RD2 amidado	88

- Las sustancias se utilizaron en una concentración de 32 µg/ml.

Los resultados también muestran que los dímeros evaluados según la invención tienen un efecto sinérgico en comparación con los monómeros utilizados a la misma dosis.

- Además, se presentan algunos datos *in vivo* sobre los péptidos utilizados, que demuestran la eficacia de los polímeros según la invención, en particular el de los dímeros, en particular el de los dímeros según SEQ ID NO: 4-8.

En experimentos con animales en varios modelos de ratones transgénicos (Tabla 2) se demostró que todos los péptidos amidados evaluados hasta la fecha son activos *in vivo*:

- Figura 1: El resultado de la llamada «prueba de reconocimiento de objetos» (ORT, del inglés *object recognition test*) se puede ver aquí. Los animales tratados con D3D3 (amidado) (detalles en la Tabla 2) y los animales tratados con placebo se colocaron individualmente y por separado entre sí en una caja que contenía dos objetos. Una vez que los animales tuvieron tiempo de explorar ambos elementos, los animales se sacaron de la caja y se volvieron a colocar 24 horas después. Antes de eso, sin embargo, se cambiaba un objeto por uno nuevo y distinto. Los animales con memoria prefieren explorar el nuevo objeto. Los animales que no recuerdan haber permanecido en la caja 24 horas antes pasan la misma cantidad de tiempo explorando el objeto antiguo y el nuevo. Se mide el tiempo en segundos que el animal pasa con el objeto antiguo (barras blancas) y el nuevo objeto (barras negras). Puede verse claramente que los animales tratados con placebo pasan la misma cantidad de tiempo con el objeto nuevo que con el viejo. Sin embargo, los animales tratados con D3D3 pasan mucho más tiempo con el objeto nuevo. Por tanto, sólo los animales tratados con D3D3 mostraron una memoria funcional en la prueba.

- Figura 2: El ensayo denominado «Rotarod» mide cuánto tiempo puede un animal mantenerse en equilibrio sobre una varilla giratoria antes de caerse. Esto se puede utilizar para medir el rendimiento neuromotor del animal. Cuanto más tiempo pueda el animal mantener el equilibrio, menos gravemente se ven afectadas sus neuronas motoras por el fenotipo de neurodegeneración. La medición se realizó antes y después del tratamiento (detalles del tratamiento en la Tabla 2). La diferencia entre antes y después del tratamiento se representa en segundos. El valor positivo para el

grupo de control (barra negra) indica que los animales no tratados mostraron menos degeneración antes del tratamiento que después del tratamiento con placebo. Como era de esperar, la degeneración progresó. Sin embargo, los animales tratados con D3 (amidado) y D3D3 (amidado) no mostraron deterioro de los síntomas neuromotores. En ambos casos, el tratamiento provocó una ralentización o incluso una parada de la neurodegeneración.

5 Figura 3: La prueba SHIRPA es una prueba en la que se evalúan varias propiedades, incluidos los reflejos. Cada propiedad se evalúa por separado de las demás y se otorgan puntos en cada caso. Cuantos más puntos, más avanzado es el fenotipo, es decir, el daño neurológico. Se midió con la prueba SHIRPA antes (barras negras) y después (barras blancas) del tratamiento (detalles del tratamiento en la Tabla 2). Puede observarse que los animales
10 tratados con D3D3 (amidado) no mostraron ningún deterioro estadísticamente significativo del valor SHIRPA. Los animales tratados con D3 (amidado) y con placebo, sin embargo, mostraron un deterioro más o menos grave del valor SHIRPA. Por lo tanto, D3D3 funciona de manera más eficaz que D3.

Figura 4: La memoria espacial de los animales se mide con el llamado «laberinto acuático de Morris». Este mide el
15 tiempo en segundos que necesita el animal para encontrar una plataforma escondida en una cuba de agua justo por debajo de la superficie del agua. Se mide en varias pruebas por día durante varios días consecutivos. A continuación, una evaluación estadística muestra si los animales tratados aprendieron mejor a encontrar la plataforma nuevamente que el grupo control. El tiempo de búsqueda se muestra en segundos durante cinco días consecutivos. El aprendizaje de los animales tratados con RD2D3 (amidados) fue estadísticamente significativo.

20 Figura 5: El resultado de la llamada «prueba de reconocimiento de objetos» (ORT, del inglés *object recognition test*) se puede ver aquí. Los animales tratados con RD2D3 (amidado) (detalles en la Tabla 2) y los animales tratados con placebo se colocaron individualmente y por separado entre sí en una caja que contenía dos objetos. Una vez que los animales tuvieron tiempo de explorar ambos elementos, los animales se sacaron de la caja y se volvieron a colocar
25 24 horas después. Antes de eso, sin embargo, se cambiaba un objeto por uno nuevo y distinto. Los animales con memoria prefieren explorar el nuevo objeto. Los animales que no recuerdan haber permanecido en la caja 24 horas antes pasan la misma cantidad de tiempo explorando el objeto antiguo y el nuevo. Se mide el tiempo en segundos que el animal pasa con el objeto antiguo (barras negras) y el nuevo objeto (barras blancas). Puede verse claramente que los animales tratados con placebo pasan la misma cantidad de tiempo con el objeto nuevo y antiguo. Sin embargo,
30 los animales tratados con RD2D3 pasan mucho más tiempo con el objeto nuevo. Por tanto, sólo los animales tratados con RD2D3 mostraron una memoria funcional en la prueba.

Las formas amidadas de D3 y D3D3 son capaces de detener la progresión del fenotipo en ratones TBA-2.1 durante el período de tratamiento de 4 semanas (véase también la Figura 2).

35 En particular, fue posible confirmar que el péptido doble D3D3 (amidado) actúa más eficazmente que el péptido único D3 (amidado), específicamente en el ensayo SHIRPA, también en el modelo animal TBA-2.1 (Figura 3). En el modelo de ratón SweDI, D3D3 pudo demostrar que mejora notablemente la cognición (en la «Prueba de reconocimiento de objetos», Figura 1) en comparación con los ratones no tratados. RD2D3 (amidado) también es capaz de mejorar la
40 cognición de los ratones SweDI, lo que se mostró tanto en el laberinto acuático de Morris (Figura 4) como en la prueba de reconocimiento de objetos (Figura 5).

Otras realizaciones:

45 Las etapas siguientes se refieren tanto a los estudios de afinidad como a los estudios sobre la degradación de oligómeros beta amiloides particularmente tóxicos.

Producción de monómeros, oligómeros y fibrillas de A β

50 Se disolvió 1 mg de A β 1-42 liofilizado y A β 1-42 biotinilado en el N-terminal en 1 ml de hexafluoroisopropanol al 100 % (HFIP) y se disolvió a temperatura ambiente durante la noche. Para la preparación de oligómeros y fibrillas, se utilizó A β no biotinilado con A β biotinilado en el N-terminal en una proporción de 1:10 y se evaporó el HFIP (Concentrator 5301 de Eppendorf). El film de A β resultante se recogió en una concentración final de 80 μ M en tampón de fosfato de sodio (10 mM, pH 7,4) y se incubó (TA, 600 rpm). El tiempo de incubación fue de 3 horas para la preparación de
55 oligómeros y de 24 horas para la preparación de fibrillas. Para la preparación de monómeros, se utilizó A β 1-42 biotinilado en el N-terminal al 100 % sin incubación.

Centrifugación en gradiente de densidad

60 La centrifugación en gradiente de densidad se realizó después de la preparación de A β para purificar las respectivas especies de A β según su tamaño. Para ello, se utilizó un gradiente de iodixanol en tampón de fosfato de sodio 10 mM, pH 7,4, con concentraciones crecientes de 50 % a 5 % v/v de iodixanol. Se aplicaron 100 μ l de la muestra de A β y se separaron por ultracentrifugación (3 h, 4 °C, 259.000 g). A continuación, el gradiente se fraccionó en 14 fracciones de

140 µl cada una. Los monómeros Aβ están en las dos primeras fracciones superiores, los oligómeros Aβ en las fracciones 4 a 6 y las fibrillas Aβ en las fracciones 11 a 13.

Inmovilización para espectroscopia SPR (resonancia de plasmón superficial)

- 5 Se utilizó un T200 de Biacore (GE Healthcare) para la espectroscopia SPR. Las especies Aβ purificadas mediante centrifugación en gradiente de densidad se inmovilizaron directamente mediante acoplamiento biotina-estreptavidina en un Sensor Chip (Series S Sensor Chips SA) según las instrucciones del fabricante. Se utilizó 1X PBS como tampón de ejecución. La carga se realizó a 25 °C y un caudal de 5 µl/min. Posteriormente, las células de flujo se liberaron de los ligandos unidos de forma no específica durante la noche a un flujo constante de 30 µl/min.

Cinética de unión

- 15 La cinética de unión también se midió mediante espectroscopia SPR en un dispositivo T200 de Biacore (GE Healthcare). Las condiciones estándar son 25 °C y un caudal de 30 µl/min. Se recogieron varios liofilizados de los péptidos D en el tampón de ejecución 1X PBS y se diluyeron en serie. El procedimiento utilizado fue la cinética de «ciclo único», donde se bombearon cinco concentraciones crecientes de analito sobre las celdas de flujo inmovilizadas. En función del analito, los tiempos de contacto fueron de 90-120 s para asociación y disociación y de 1800-5400 s para la disociación final. Se hizo referencia a los sensogramas dos veces con la ayuda de una celda de flujo descargada y el tampón de funcionamiento utilizado. La evaluación de las curvas de unión se llevó a cabo mediante modelos de ajuste cinético (modelo de unión heterogénea) por medio del software de evaluación Biacore T200 (versión 2.0).

- 25 Las figuras 6-8 (no según la invención) muestran los resultados sobre el comportamiento de unión de los péptidos (estudio de afinidad). Las figuras contienen datos para la evaluación cinética de la fuerza de unión de los distintos candidatos a monómeros beta amiloides (figura 6), oligómeros beta amiloides (figura 7) y fibrillas beta amiloides (figura 8). Las dos constantes de enlace que surgen al ajustar un modelo de enlace heterogéneo se muestran en cada caso y se representan como barras blancas y barras negras. Es importante que aquí se pueda ver una escala logarítmica, lo que significa que pequeñas diferencias en el tamaño de la barra son grandes diferencias en la constante de disociación K_D . Las barras blancas son los sitios de baja afinidad, es decir, los sitios de unión de baja afinidad y su fuerza de unión, y las barras negras muestran los sitios de unión de alta afinidad y su fuerza de unión.

- 35 Se muestra que sólo en el caso del péptido lineal D3, en el que el C-terminal libre tiene una carga negativa, es suficiente un modelo de unión homogéneo 1:1 para ajustar las curvas de unión.

- También se muestra que en casi todos los casos, en los péptidos ciclados utilizados, las barras blancas para los sitios de unión de baja afinidad tienen la misma altura. Más bien, las principales diferencias surgen en los sitios de unión de alta afinidad, que se muestran como barras negras.

- 40 También está claro que el cD3r cíclico (SEQ ID NO: 9) se desempeña muy bien (Figura 6), es decir, tiene una afinidad particularmente alta.

- En el caso de los oligómeros que son particularmente interesantes, el cD3r se une incluso en dos órdenes de magnitud con más fuerza que los otros péptidos ciclados (Figura 7).

- 45 El cD3r también se desempeña muy bien en las fibrillas en comparación con los otros péptidos, donde como característica especial el péptido cD3 (P2K) (SEQ ID NO: 12) se desempeña extremadamente bien y penetra en el área de unión sub-µM (Figura 8).

- 50 También se muestra que la forma amidada de D3 se une más fuertemente al monómero beta amiloide y al oligómero beta amiloide en comparación con la forma no amidada de D3. Esto es evidente en el valor K_{D1} más bajo para el sitio de baja afinidad y la existencia de un sitio de alta afinidad con un K_{D2} en el intervalo sub-µM.

- Los valores R_{max} en las figuras 6-8 indican cómo de fuerte es la contribución del K_D respectivo a la capacidad de carga total. En el ejemplo para los oligómeros (figura 7) se da un R_{max} de 79/21 % para el péptido cD3z. cD3z significa cD3 cero, es decir, D3 ciclado sin enlaces de aminoácidos adicionales. La barra blanca indica que el sitio de baja afinidad en total puede sumar el 79 % de la capacidad de carga total RU y K_{D2} en total el 21 % del RU. Esto significa que hay una proporción de aproximadamente 1:4 de sitios de unión para este péptido, es decir, hay aproximadamente 4 veces más sitios de baja afinidad que sitios de alta afinidad.

- 60 Tales distinciones entre el sitio de baja afinidad y el sitio de alta afinidad se producen con los péptidos.

El hecho de que el ajuste de los datos de unión experimentales para el péptido lineal D3 no dé como resultado un sitio

de alta afinidad puede explicarse por el hecho de que no se une al sitio de alta afinidad o que las afinidades por el sitio de alta afinidad y los sitios de baja afinidad son indistinguibles.

A partir de estos datos, está claro que el D3 lineal en los oligómeros beta amiloides solo se une a un sitio de baja
5 afinidad, pero no a un sitio de alta afinidad.

Tabla 2 (* = no según la invención)

Número de experimento	Péptido	Modelo de ratón	Dosis	Laberinto acuático	Reconocimiento de objetos	Enfermedad en la placa	SHIRPA	Rotarod
1*	D3 amidado*	TBA	0,1 mg/día	No realizada	No realizada	No realizada		Importante (Figura 2)
2	D3D3 amidado	TgSwDI	1 mg/4 semanas	Importante día 5	Importante (Figura 1)	Importante	No realizada	No realizada
3	D3D3 amidado	TBA	0,1 mg/día	No realizada	No realizada	No realizada	Importante (Figura 3)	Importante (Figura 2)
4	RD2D3 amidado	TgSwDI	7 mg/4 semanas	Importante día 5 (Figura 4)	Importante (Figura 5)		No realizada	No realizada
Cada sustancia se administró durante 4 semanas por vía i. p. (microbomba).								

REIVINDICACIONES

1. Péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos que se une a especies beta amiloides y en el que la carga negativa del grupo carboxilo presente habitualmente en el C-terminal libre se ha eliminado mediante modificación, de modo que no haya carga o sea positiva, con un grupo amida de ácido (grupo CONH₂) presente en el C-terminal libre en lugar del grupo carboxilo, que contiene al menos un monómero con una secuencia de aminoácidos, seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6.
2. Péptido según la reivindicación 1, **caracterizado porque** está constituido por aminoácidos D-enantioméricos.
3. Péptido según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** está unido a otra sustancia.
4. Péptido según una de las reivindicaciones anteriores, en lo sucesivo denominado «polímero», **caracterizado porque** contiene al menos dos monómeros con una secuencia de aminoácidos, seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6 que se unen a especies beta amiloides.
5. Péptido según la reivindicación anterior, **caracterizado por** un dímero compuesto por dos monómeros con una secuencia de aminoácidos, seleccionada del grupo constituido por SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6.
6. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** un dímero de dos monómeros, donde un monómero está seleccionado de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 6 y un monómero está seleccionado de la SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 8.
7. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el uso en medicina.
8. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
9. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el uso en la inhibición de la formación de fibrillas a partir de péptidos beta amiloides.
10. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones anteriores para el uso para unirse a péptidos beta amiloides agregados.
11. Procedimiento de producción de un péptido según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el péptido se produce mediante síntesis de péptidos.
12. Kit que contiene un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 -10.
13. Composición que contiene un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 -10.
14. Péptido según una de las reivindicaciones 1 - 10 para el uso como sonda para la identificación, determinación cuantitativa y/o cualitativa de fibrillas beta amiloides, protofibrillas beta amiloides y/o oligómeros beta amiloides.
15. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10 para el uso en la inhibición de la formación de oligómeros, protofibrillas y fibrillas beta amiloides y/o agregados de péptidos beta amiloides.
16. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10 para el uso en la eliminación y/o destoxificación de oligómeros, protofibrillas, fibrillas y/o agregados beta amiloides tóxicos.
17. Péptido para su uso según la reivindicación 16 **caracterizado porque** los oligómeros beta amiloides y/o los agregados con el péptido según las reivindicaciones 1 - 10 forman agregados amorfos no tóxicos.
18. Péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 10 para el uso como agente terapéutico y para la prevención de la enfermedad de Alzheimer.

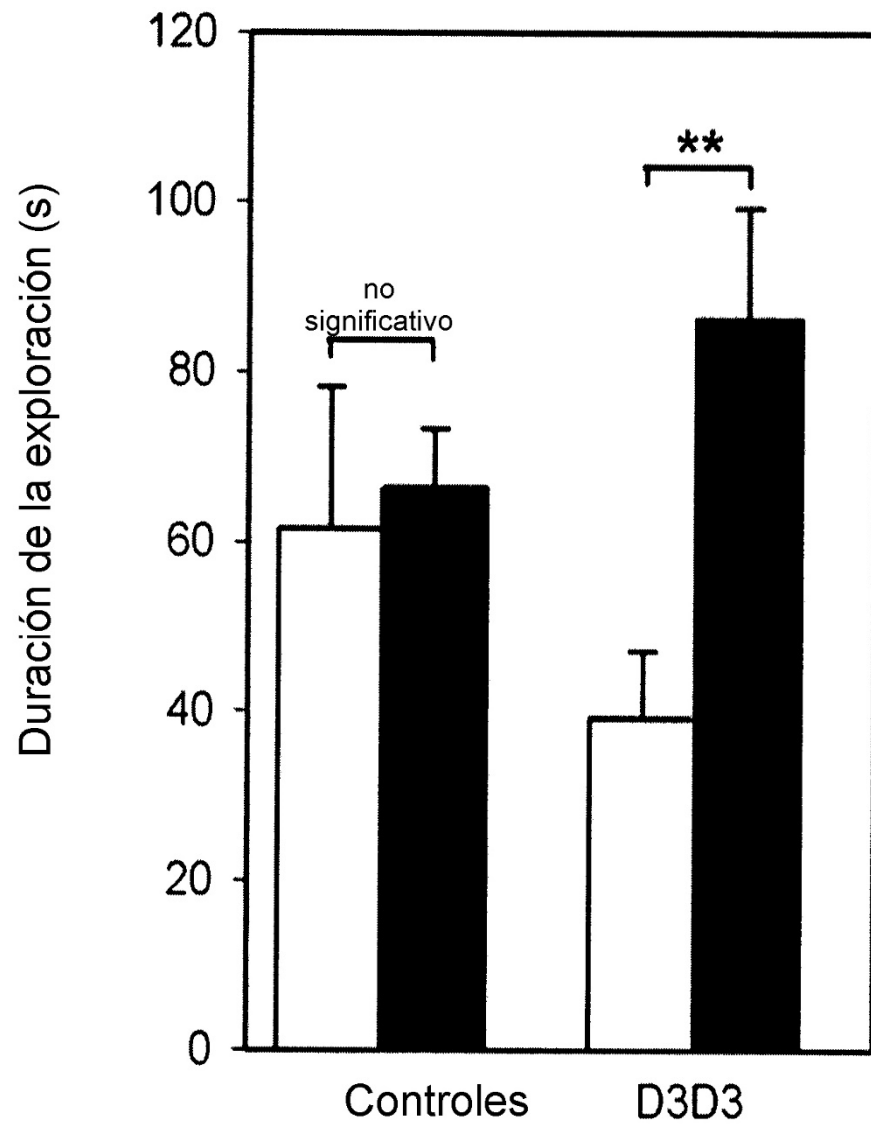


Figura 1

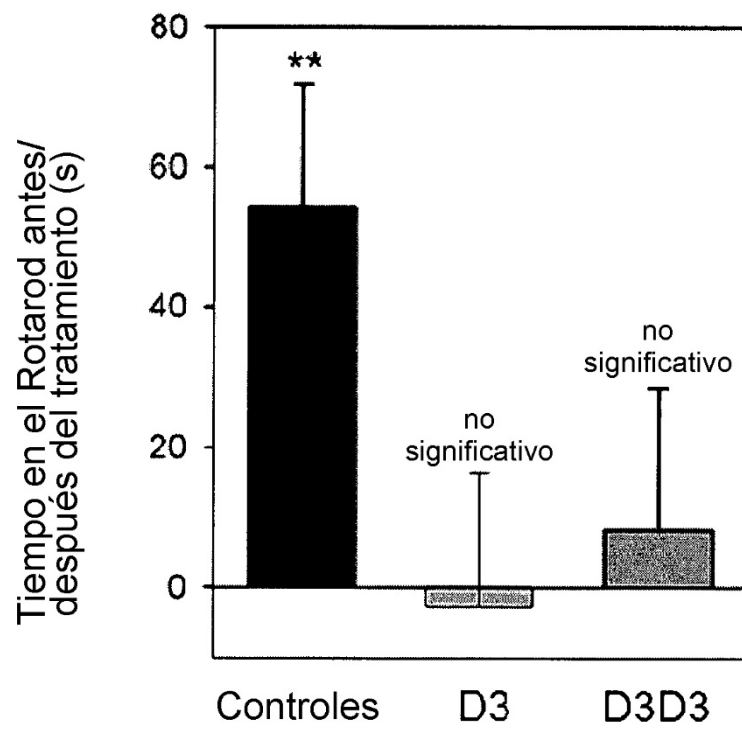


Figura 2

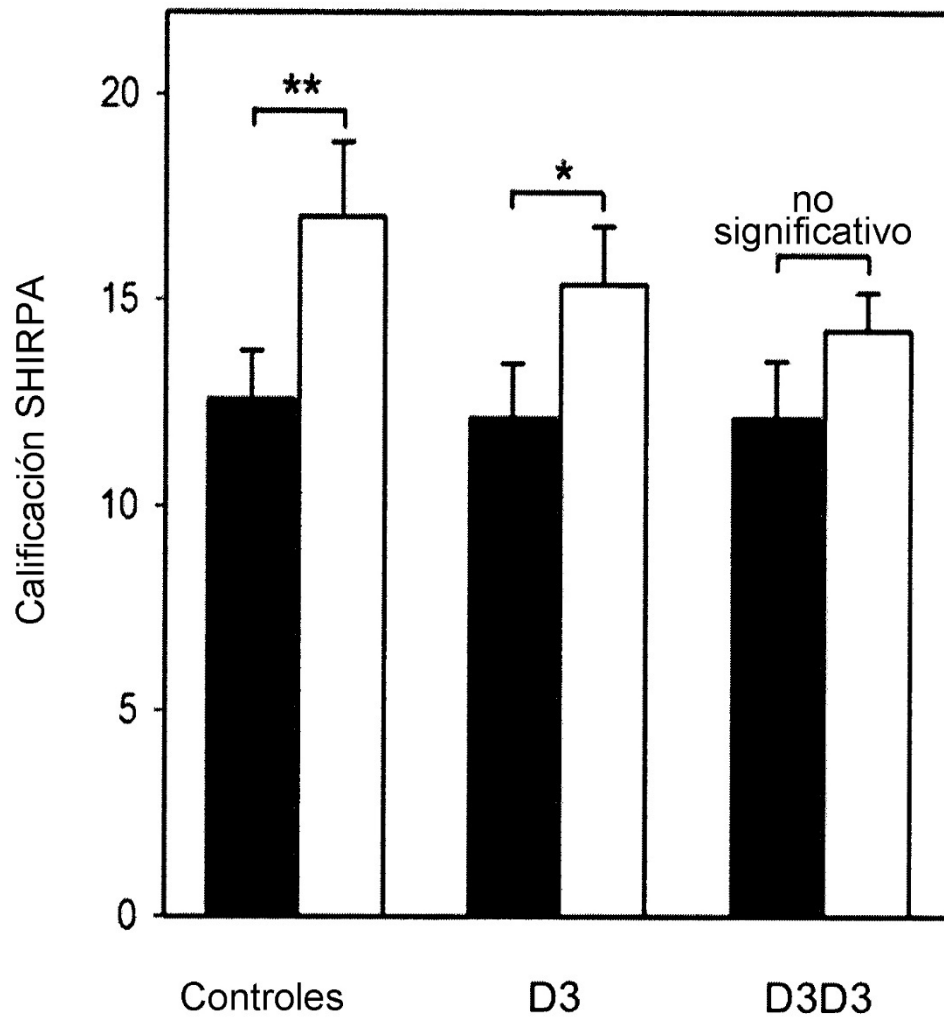


Figura 3

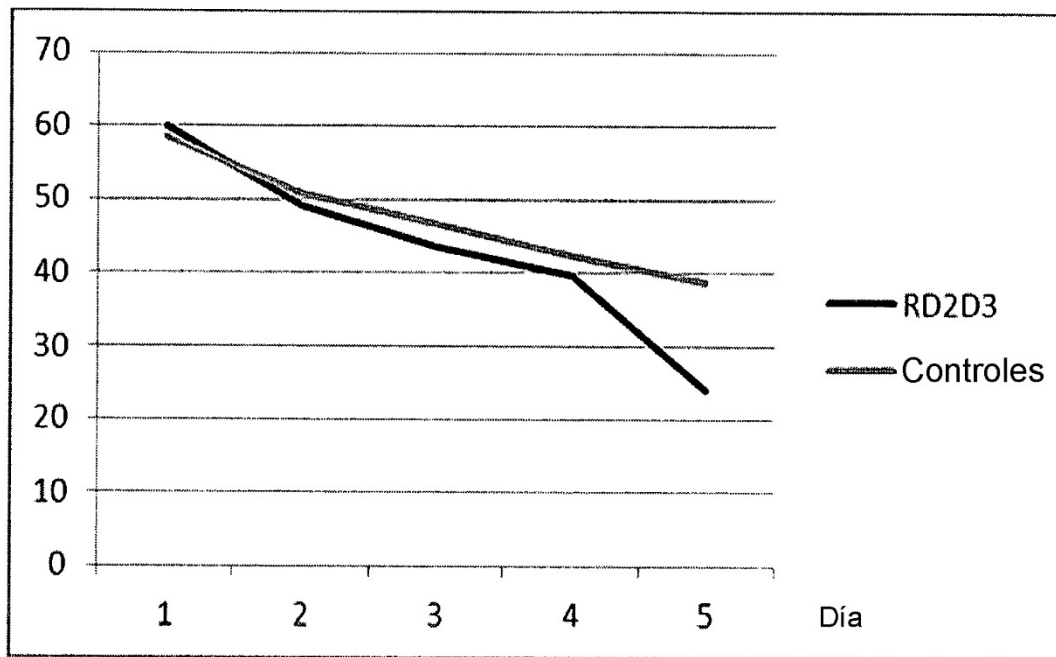


Figura 4

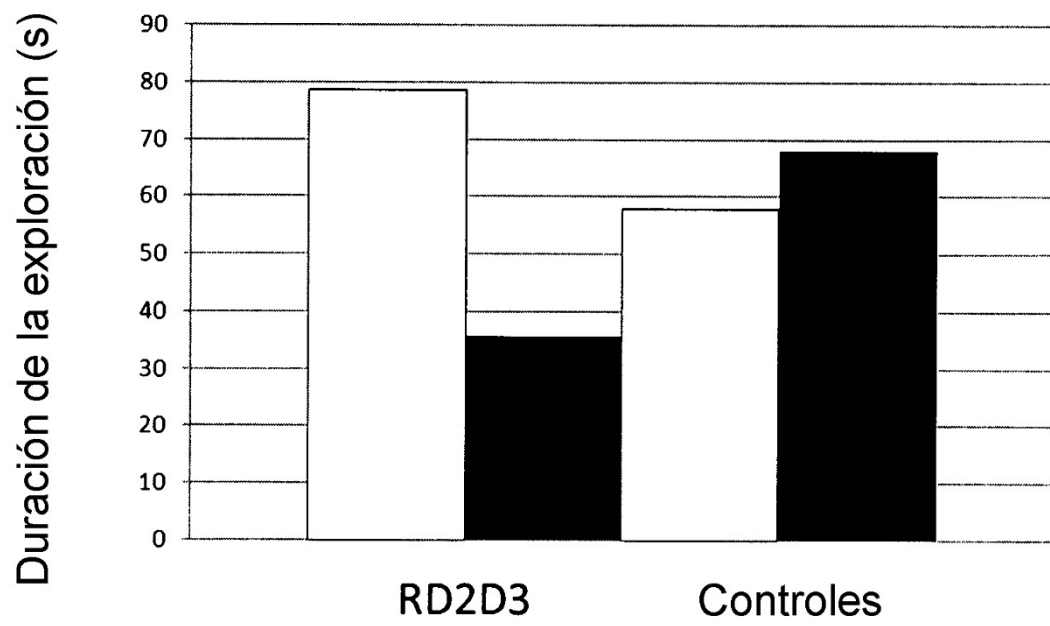


Figura 5

Cinética de los monómeros A-beta

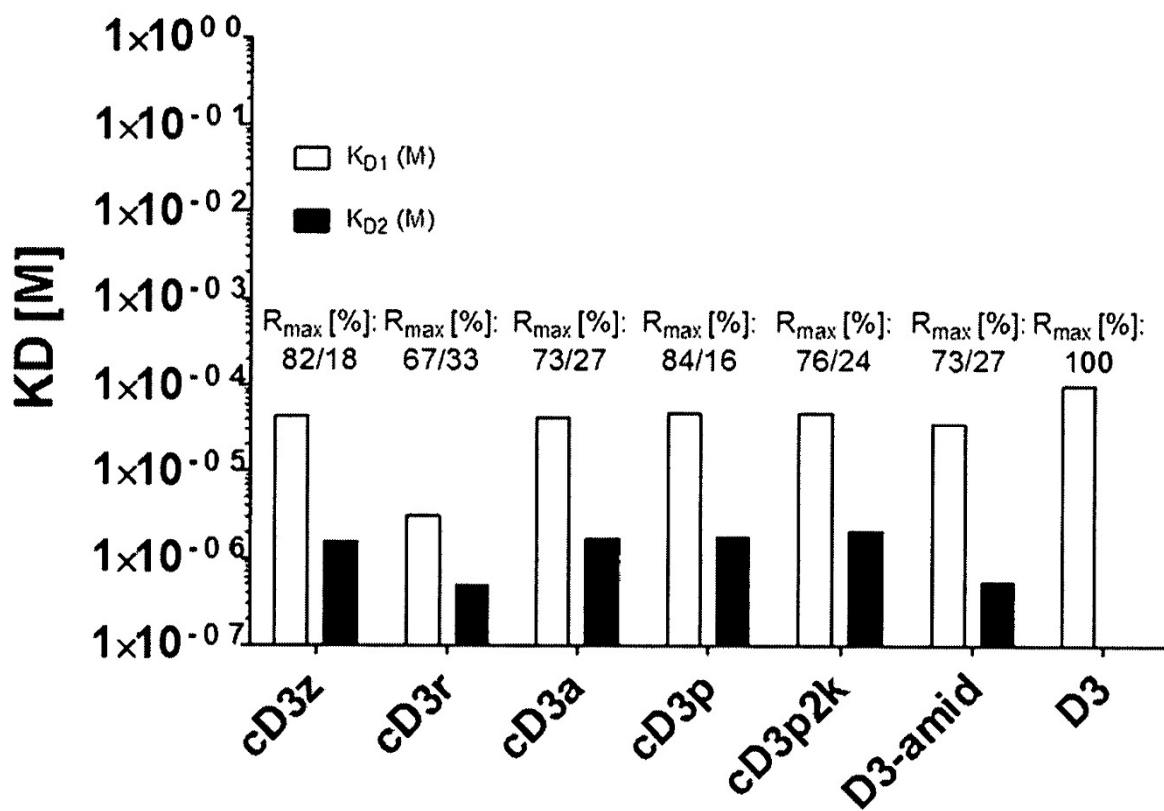


Figura 6

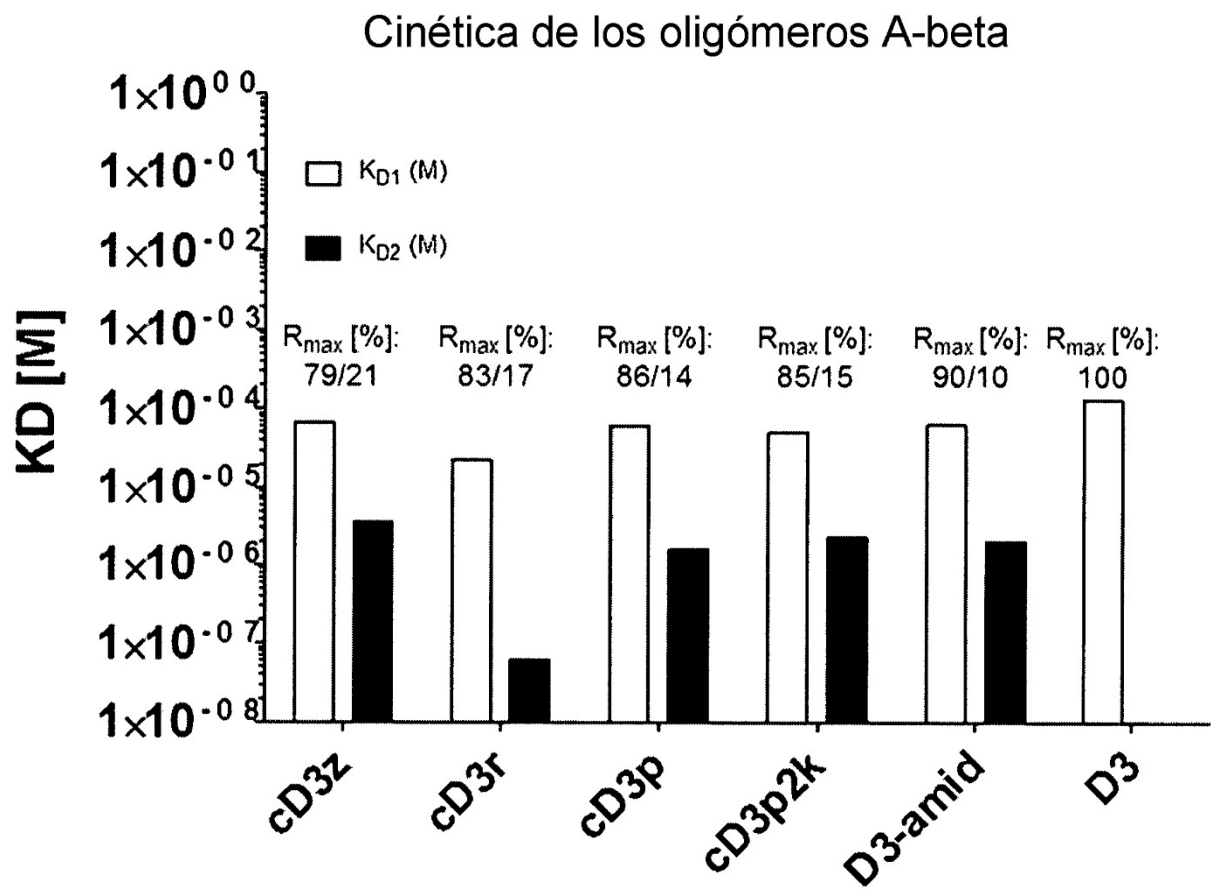


Figura 7

Cinética de las fibrillas A-beta

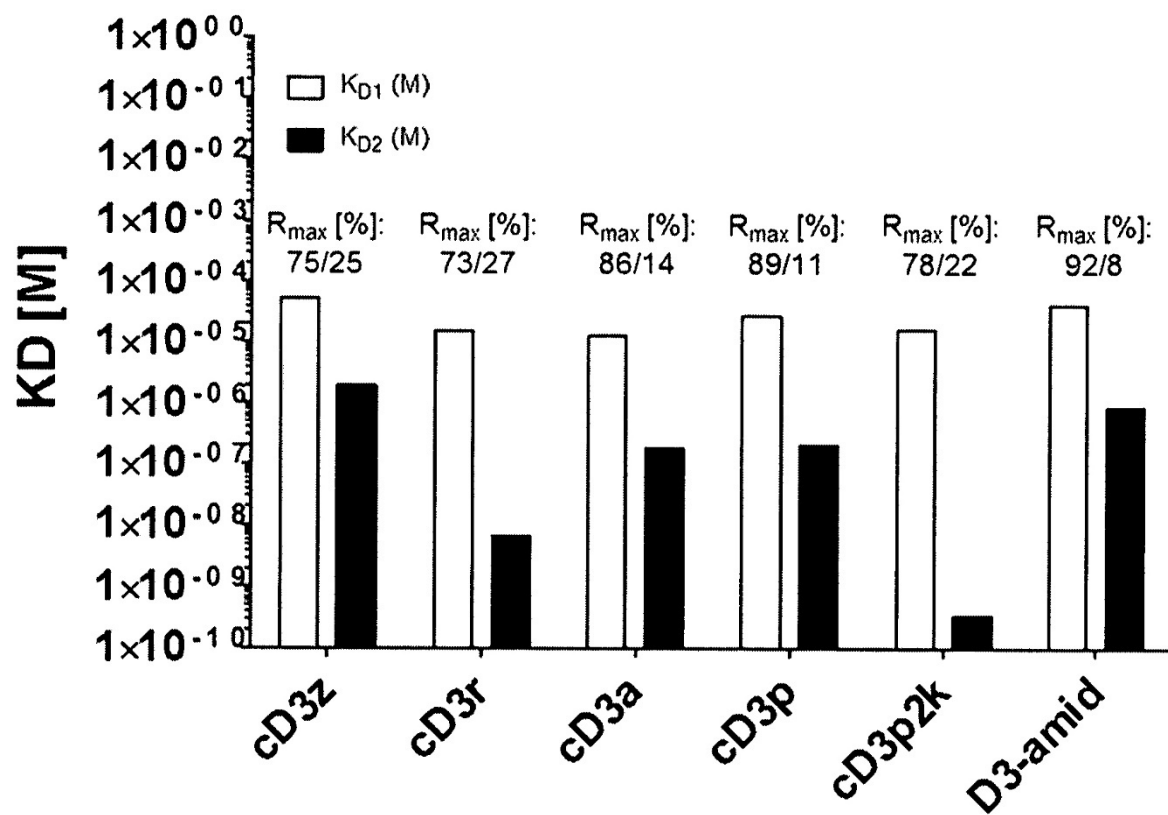


Figura 8