

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 021 835**

51 Int. Cl.:

A61K 38/39 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
A61K 38/48 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/64 (2007.01)
A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.04.2020** **PCT/US2020/029212**
87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2020** **WO20219486**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.04.2020** **E 20793550 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2025** **EP 3958889**

54 Título: **Composiciones de péptidos miméticos de colágeno para tratar una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior que involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico**

30 Prioridad:

22.04.2019 US 201962836934 P
11.11.2019 US 201962933685 P
10.01.2020 US 202062959282 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.05.2025

73 Titular/es:

SUSTAIN HOLDINGS, LLC (100.00%)
411 SE Osceola St., Suite 203
Stuart, FL 34994, US

72 Inventor/es:

SCHLUMPF, RICHARD E.;
BARATTA, ROBERT;
DELOREY, SHAWN y
CALKINS, DAVID J.

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 3 021 835 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

Composiciones de péptidos miméticos de colágeno para tratar una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior que involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico

La presente descripción se encuentra en los campos de la química medicinal, la biotecnología, los productos farmacéuticos y los dispositivos médicos, así como también en el uso de compuestos medicinales y dispositivos médicos para el tratamiento, la prevención y la mejora de enfermedades, trastornos y dolencias físicas en seres humanos y animales veterinarios.

Antecedentes de la técnica

El colágeno es la proteína más abundante en los vertebrados y es la proteína estructural fundamental para los tejidos de los vertebrados, que se presenta prácticamente en todos los tejidos, que incluyen la piel y otros tejidos epiteliales (que incluyen el revestimiento de la mayoría de los órganos luminales, tales como los del tracto gastrointestinal), tendones, huesos, vasos sanguíneos, cartílago, ligamentos y dientes. En los seres humanos, el colágeno constituye aproximadamente un tercio de la proteína total y aproximadamente tres cuartos del peso seco de la piel (ver Shoulders, M.D., y Raines, R.T., *Ann. Rev. Biochem.* 78:929-958 (2009); Gelse, K., y otros, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:1531-1546 (2003)).

El colágeno es una proteína fibrosa que está compuesta de una triple hélice, que generalmente consiste de dos cadenas idénticas y una tercera cadena que difiere ligeramente en su composición química. Los mamíferos producen al menos 46 cadenas polipeptídicas de colágeno distintas que se combinan para formar variantes o "tipos" de colágeno. Hasta la fecha, se han descrito 28 tipos de colágeno. Los tipos de colágeno generalmente se agrupan de acuerdo con sus formas estructurales: fibrilar (tipos I, II, III, V y XI) que representan aproximadamente el 90 % de toda la proteína de colágeno que se encuentra en los mamíferos, y no fibrilar (membrana basal o tipo IV, y otros tipos de colágeno no fibrilar con estructuras de hélice interrumpidas) ver Id.). Los cinco tipos más comunes de colágeno y sus distribuciones tisulares son:

- Tipo I: piel, tendón, órganos, hueso, tejido conectivo vascular;
- Tipo II: cartílago;
- Tipo III: tejido conectivo reticular, a menudo asociado con colágeno tipo I;
- Tipo IV: membranas basales de tejidos epiteliales y determinados tumores sólidos; y
- Tipo V: cabello, placenta, membranas celulares externas.

En cada una de estas variantes, las cadenas polipeptídicas de colágeno están compuestas por aproximadamente 300 repeticiones de los aminoácidos prolina (Pro), 4(R)-hidroxiprolina (Hyp) y glicina (Gly), generalmente en la secuencia X-Y-Gly, donde X es a menudo un residuo de Pro y Y es a menudo un residuo de (Hyp); en vertebrados, el motivo de repetición típico en colágeno es ProProGly (ver Hulmes, D.J.S., "Collagen Diversity, Synthesis and Assembly," en: *Collagen: Structure and Mechanics*, P. Fratzl, Ed., Nueva York: Springer, págs. 15-47 (2008)). Subsecuentemente, in vivo, la hidroxilación de los residuos de Pro se realiza enzimáticamente después de la biosíntesis del colágeno pero antes de que las cadenas comiencen a formar una triple hélice. Por lo tanto, la hidroxilación de al menos un residuo de Pro en el motivo ProProGly, que típicamente forma ProHypGly, parece ser importante tanto para el plegamiento adecuado como para la estabilidad de la triple hélice de colágeno, ambos de los cuales son clave para la estructura y función normales del colágeno in vivo (ver Shoulders, M.D., y Raines, R.T., *Ann. Rev. Biochem.* 78:929-958 (2009)). Por ejemplo, la temperatura de fusión de una triple hélice de (ProHypGly)₁₀ (SEQ ID NO: 396) es de 58 °C, mientras que el de una triple hélice de (ProProGly)₁₀ (SEQ ID NO: 397) es solo 24 °C (Sakakibara y otros, *Biochim. Biophys. Acta*, 303:198-202 (1973)), y la velocidad a la que (ProHypGly)₁₀ (SEQ ID NO: 396) las cadenas se pliegan en una triple hélice es sustancialmente mayor que la velocidad correspondiente para (ProProGly)₁₀ (SEQ ID NO: 397) cadenas (Chopra y Ananthanarayanan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79:7180-7184 (1982)).

El colágeno tipo I es el colágeno más abundante y el más estudiado. En los seres humanos y la mayoría de los otros animales, forma más del 90 % de la masa orgánica del hueso y es el colágeno principal de los tendones, la piel, los ligamentos, la córnea y muchos tejidos conectivos intersticiales, con la excepción de muy pocos, tales como el cartílago hialino, el cerebro y el cuerpo vítreo. La triple hélice de colágeno tipo I se forma generalmente como un heterotrímero por dos cadenas $\alpha 1$ idénticas y una cadena $\alpha 2$. Las fibras triple hélice se incorporan, in vivo, principalmente en fibrillas compuestas que contienen otros tipos de colágeno, que como se indicó anteriormente varían en dependencia del tipo y la ubicación del tejido (Fleischmajer, E.D. y otros, *J. Struct. Biol.* 105: 162- 169 (1990); Niyibizi, C. y Eyre, D.R., *Connect. Tissue Res.* 20: 247- 250 (1989)). En la mayoría de los órganos y notablemente en los tendones y la fascia, el colágeno tipo I proporciona rigidez a la tracción y en el hueso, define las propiedades biomecánicas relacionadas con el soporte de carga, la resistencia a la tracción y la rigidez torsional.

En los tejidos conectivos (tales como hueso, tendón, cartílago, ligamento, piel, vasos sanguíneos y dientes), las moléculas de colágeno individuales se enrollan juntas en triples hélices compactas. Estas hélices se organizan en fibrillas de gran resistencia a la tracción (Jones y Miller, *J. Mol. Biol.*, 218:209-219 (1991)) mediante reticulación de fibras en triple hélice individuales (Lodish, H. y otros, "Collagen: The Fibrous Proteins of the Matrix", en: *Molecular Cell*

Biology, 4ta ed., Sección 22.3, Nueva York: W. H. Freeman (2000)). Variar las disposiciones y la reticulación de las fibrillas de colágeno permite que los vertebrados soporten el estrés en una dimensión (tendones), dos dimensiones (piel) o tres dimensiones (cartílago).

Los colágenos sirven dentro del cuerpo en gran medida para el mantenimiento de la integridad estructural de los tejidos y órganos. En todos los órganos parenquimatosos, los colágenos representan el componente principal de la matriz intersticial así como también las membranas basales, mientras que en todos los tejidos conectivos, particularmente el hueso y el cartílago, los colágenos proporcionan la principal columna vertebral funcional de las estructuras. Sin embargo, además de los aspectos biomecánicos, los colágenos también están involucrados en una variedad de funciones adicionales. Por ejemplo, los receptores específicos de superficie celular e intracelular interactúan con colágenos, y la señalización por estos receptores está involucrada en la adhesión celular, diferenciación, crecimiento y otras actividades celulares, así como también en la supervivencia de las células tanto in vivo como in vitro (Vogel, W.F., *Eur. J. Dermatol.* 11: 506-514 (2001); Gelse, K., y otros, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55:1531-1546 (2003)). Los colágenos también están implicados en el atrapamiento, el almacenamiento local y el suministro de factores de crecimiento y citocinas en una variedad de tejidos en los que se encuentran los colágenos. A través de estas interacciones del receptor y las funciones de almacenamiento y suministro, el colágeno desempeña un papel clave en el desarrollo de órganos, la cicatrización de heridas y la reparación de tejidos (Chattopadhyay, S. y R. Raines, *Biopolymers* 101: 821-833 (2014); Yamaguchi, Y. y otros, *Nature* 346: 281-284 (1990); Hay, E.D., *J. Cell Biol.* 91:205s-223s (1981); Bautista, C.M. y otros, *Metabolism* 39: 96-100 (1990); Zhu, Y. y otros, *J. Cell Biol.* 144: 1069-1080 (1998); Schlegel, K.A. y otros, *Biomaterials* 25:5387-5393 (2004); Kumar, V.A., y otros, *Biomacromol.* 15: 1484-1490 (2014)). Estas funciones también califican a los colágenos como vehículos de transporte candidatos para el suministro de compuestos terapéuticos (ver, por ejemplo, Chattopadhyay, S. y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012); Schuppan, D. y otros, *Gastroenterol.* 114: 139-152 (1998); Frenkel, S.R. y otros, *J. Bone Jt. Surg.* 79-B: 831-836 (1997); Albu, M.G. y otros, "Collagen-Based Drug Delivery Systems for Tissue Engineering", en: *Biomaterials Applications for Nanomedicine*, Pignatello, R. (Ed.), ISBN: 978-953-307-661-4, DOI: 10.5772/22981, Rijeka, Croacia: InTech, disponible en: <https://www.intechopen.com/books/biomaterials-applications-for-nanomedicine/collagen-based-drug-delivery-systems-for-tissue-engineering> (2011)), y para su uso en la cicatrización de heridas mediante la promoción directa de la reparación o regeneración de tejidos (Wakitani, S. y otros, *J. Bone Jt. Surg.* 71-B: 74-80 (1989); Kumar, V.A., y otros, *Biomacromol.* 15: 1484-1490 (2014)). El colágeno (más particularmente, el colágeno interrumpido) también se ha implicado en la progresión del tumor y la metástasis en humanos y otros vertebrados (para una reseña de este tema, ver Fang, M., y otros, *Tumor Biol.* 35:2871-2882 (2014)).

Sin embargo, más allá de las moléculas de colágeno intactas, los fragmentos de colágeno también pueden tener usos terapéuticos potenciales y, de hecho, pueden desempeñarse de una manera superior con relación al colágeno nativo. Por ejemplo, se ha demostrado que los fragmentos no colagenosos de colágenos IV, XV y XVIII promueven el crecimiento de vasos sanguíneos y células tumorales, e influyen en una variedad de otras actividades celulares (Ortega, N. y Werb, Z., *J. Cell Sci.* 115: 4201-4214 (2002); Davis, G.E. y otros, *Am. J. Pathol.* 156: 1489-1498 (2000); O'Reilly, M.S. y otros, *Cell* 88: 277-285 (1997)). De manera análoga, como se describe con mayor detalle más abajo, los fragmentos o péptidos miméticos de colágeno sintéticos (CMP) de colágeno tipo I se han estudiado recientemente por su utilidad en el tratamiento de enfermedades y trastornos médicos, tanto como ingredientes farmacéuticos activos (API) en sí mismos como en el suministro de un agente de cicatrización de heridas de la piel (ver patentes de Estados Unidos núms. 5,973,112, 7,122,521, 7,858,741, y la publicación de patente de Estados Unidos núm. US 2007/0275897 A1; ver también, por ejemplo, Chattopadhyay, S. y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012); Kumar, V.A. y otros, *Biomacromolecules* 15:1484-1490 (2014)).

Las anomalías del colágeno se asocian con una amplia variedad de enfermedades humanas, que incluyen enfermedades y trastornos del ojo tales como cataratas y glaucoma (Coudrillier, B., y otros, *PLoS ONE* 10: e0131396 (2015); Huang, W. y otros, *Med.Sci. Monit. Basic Res.* 19: 237-240 (2013); Dua, H.S., y otros, *Br. J. Ophthalmol.* 98: 691-697 (2014)), artritis, reumatismo, huesos frágiles, aterosclerosis y cirrosis. Las interrupciones en el colágeno también se asocian con determinadas enfermedades humanas y veterinarias, tales como determinados cánceres (particularmente carcinomas de los órganos lumbinales y determinados sarcomas); ver, por ejemplo, Lauer, J.L., y Fields, G.B., "Collagen in Cancer", en *The Tumor Microenvironment*, Nueva York: Springer, págs. 477-507 (2010). El colágeno también es de importancia fundamental en la cicatrización de heridas y se conoce que se regula positivamente en áreas de heridas epiteliales donde se produce la cicatrización (ver, por ejemplo, patentes de Estados Unidos núms. 5,973,112 y 7,122,521; ver también Chattopadhyay, S., y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012); Chattopadhyay, S., y otros, *Org. Biomol. Chem.* 10:5892-5897 (2012); Kumar, V.A., y otros, *Biomacromol.* 15: 1484-1490 (2014)), que incluye en la piel y la córnea del ojo. De hecho, se ha informado que el colágeno, fragmentos de colágeno o determinados péptidos miméticos de colágeno natural se muestran promisorios en el tratamiento de determinadas heridas y enfermedades en humanos y animales, particularmente heridas de la piel (ver, por ejemplo, patentes de Estados Unidos núms. 5,973,112, 7,122,521, 7,858,741, y la publicación de patente de Estados Unidos núm. US 2007/0275897 A1; ver también Kumar, V.A. y otros, *Biomacromolecules* 15:1484-1490 (2014)). Se cree que estos fragmentos de colágeno o péptidos miméticos de colágeno pueden dirigirse específicamente a áreas de interrupción del colágeno asociadas con heridas en la piel mediante la intercalación en el colágeno interrumpido y la reformación de la triple hélice nativa de colágeno I (ver, por ejemplo, Chattopadhyay, S., y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012); Chattopadhyay, S., y otros, *Org. Biomol. Chem.* 10:5892-5897 (2012)). Como resultado, se han hecho intentos de usar colágeno como vehículo para suministrar determinados

fármacos, con diversos grados de éxito (ver, por ejemplo, B. An, y otros, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 97:69-84 (2016); V. Chak, y otros, *Intl. J. Pharm. Teaching and Practices* 4:811 (2013)). Los péptidos miméticos de colágeno también se han usado en una aplicación tópica para suministrar un compuesto terapéutico conjugado, el neuropéptido conocido como Sustancia P, a áreas de heridas en la piel; se ha demostrado que tales conjugados CMP-Sustancia P aceleran la cicatrización de heridas en un modelo de piel de ratón (Chattopadhyay, S., y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012)). Determinados componentes de la matriz extracelular (ECM), que incluyen colágenos, también participan en el mantenimiento de la estructura y función adecuadas del sistema nervioso, particularmente el sistema nervioso periférico, y la interrupción o daño a estos componentes de ECM a menudo conduce a trastornos de las células nerviosas y/o muerte (ver, por ejemplo, Koopmans G, Hasse B, Sinis N. *The role of collagen in peripheral nerve repair* (Capítulo 19). *International Review of Neurobiology*. Volumen 87: Academic Press, Elsevier; págs. 363-79 (2009); Gao X, y otros, *Rev. Neurosci.* 24(4):443-53 (2013); Campbell IC y otros, *J. Biomech. Eng.* 136(2):021005 (2014); Vecino E y otros, *J. Cytol. Histol.* S3:007 (2015); Vecino E., y Kwok, J.C.F., "The Extracellular Matrix in the Nervous System: The Good and the Bad Aspects", en *Composition and Function of the Extracellular Matrix in the Human Body*, F. Travascio, ed., Intech Open, ISBN 978-953-51-2416-0 (2016), consultada el 8 de noviembre de 2019, en <http://dx.doi.org/10.5772/62527>.

Las anomalías del colágeno se asocian con una amplia variedad de enfermedades humanas, que incluyen enfermedades y trastornos del ojo tales como cataratas y glaucoma (Coudrillier, B., y otros, *PLoS ONE* 10: e0131396 (2015); Huang, W. y otros, *Med.Sci. Monit. Basic Res.* 19: 237-240 (2013); Dua, H.S., y otros, *Br. J. Ophthalmol.* 98: 691-697 (2014)), artritis, reumatismo, huesos frágiles, aterosclerosis y cirrosis. Las interrupciones en el colágeno también se asocian con determinadas enfermedades humanas y veterinarias, tales como determinados cánceres (particularmente carcinomas de los órganos luminales y determinados sarcomas); ver, por ejemplo, Lauer, J.L., y Fields, G.B., "Collagen in Cancer", en *The Tumor Microenvironment*, Nueva York: Springer, págs. 477-507 (2010). El colágeno también es de importancia fundamental en la cicatrización de heridas y se conoce que se regula positivamente en áreas de heridas epiteliales donde se produce la cicatrización (ver, por ejemplo, patentes de Estados Unidos núms. 5,973,112 y 7,122,521; ver también Chattopadhyay, S., y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012); Chattopadhyay, S., y otros, *Org. Biomol. Chem.* 10:5892-5897 (2012); Kumar, V.A., y otros, *Biomacromol.* 15: 1484-1490 (2014)), que incluye en la piel y la córnea del ojo. De hecho, se ha informado que el colágeno, fragmentos de colágeno o determinados péptidos miméticos de colágeno natural se muestran promisorios en el tratamiento de determinadas heridas y enfermedades en humanos y animales, particularmente heridas de la piel (ver, por ejemplo, patentes de Estados Unidos núms. 5,973,112, 7,122,521, 7,858,741, y la publicación de patente de Estados Unidos núm. US 2007/0275897 A1; ver también Kumar, V.A. y otros, *Biomacromolecules* 15:1484-1490 (2014)). Se cree que estos fragmentos de colágeno o péptidos miméticos de colágeno pueden dirigirse específicamente a áreas de interrupción del colágeno asociadas con heridas en la piel mediante la intercalación en el colágeno interrumpido y la reformación de la triple hélice nativa de colágeno I (ver, por ejemplo, Chattopadhyay, S., y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012); Chattopadhyay, S., y otros, *Org. Biomol. Chem.* 10:5892-5897 (2012)). Como resultado, se han hecho intentos de usar colágeno como vehículo para suministrar determinados fármacos, con diversos grados de éxito (ver, por ejemplo, B. An, y otros, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 97:69-84 (2016); V. Chak, y otros, *Intl. J. Pharm. Teaching and Practices* 4:811 (2013)). Los péptidos miméticos de colágeno también se han usado en una aplicación tópica para suministrar un compuesto terapéutico conjugado, el neuropéptido conocido como Sustancia P, a áreas de heridas en la piel; se ha demostrado que tales conjugados CMP-Sustancia P aceleran la cicatrización de heridas en un modelo de piel de ratón (Chattopadhyay, S., y otros, *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 10:1012-1020 (2012)). Determinados componentes de la matriz extracelular (ECM), que incluyen colágenos, también participan en el mantenimiento de la estructura y función adecuadas del sistema nervioso, particularmente el sistema nervioso periférico, y la interrupción o daño a estos componentes de ECM a menudo conduce a trastornos de las células nerviosas y/o muerte (ver, por ejemplo, Koopmans G, Hasse B, Sinis N. *The role of collagen in peripheral nerve repair* (Capítulo 19). *International Review of Neurobiology*. Volumen 87: Academic Press, Elsevier; págs. 363-79 (2009); Gao X, y otros, *Rev. Neurosci.* 24(4):443-53 (2013); Campbell IC y otros, *J. Biomech. Eng.* 136(2):021005 (2014); Vecino E y otros, *J. Cytol. Histol.* S3:007 (2015); Vecino E., y Kwok, J.C.F., "The Extracellular Matrix in the Nervous System: The Good and the Bad Aspects", en *Composition and Function of the Extracellular Matrix in the Human Body*, F. Travascio, ed., Intech Open, ISBN 978-953-51-2416-0 (2016), consultada el 8 de noviembre de 2019, en <http://dx.doi.org/10.5772/62527>.

Los documentos WO2018/187530A1 y CA3058971A1 describen composiciones que comprenden uno o más péptidos miméticos de colágeno, unidos opcionalmente a uno o más compuestos terapéuticos, para su uso en métodos de tratamiento de determinadas enfermedades y trastornos físicos en seres humanos y animales veterinarios, que incluyen enfermedades o trastornos oculares. El documento US8283414 B2 describe composiciones que comprenden colágeno modificado y un método para modificar el colágeno. Este método incluye poner en contacto colágeno con un péptido mimético de colágeno, en condiciones que proporcionan una interacción física entre el colágeno y el péptido mimético de colágeno. El documento US 2019/002531 A1 describe péptidos miméticos derivados de colágeno tipo IV que tienen propiedades antiangiogénicas y antitumorales y métodos de su uso para tratar el cáncer, enfermedades oculares, tales como la degeneración macular relacionada con la edad, y otras enfermedades dependientes de la angiogénesis.

Los tratamientos para enfermedades/trastornos son costosos, difíciles de suministrar con especificidad y pueden tener efectos perjudiciales en sitios distales al sitio de acción previsto. Por ejemplo, muchas composiciones medicinales,

que incluyen antibióticos, terapias de moléculas pequeñas (por ejemplo, compuestos antineoplásicos) y biológicos (por ejemplo, terapias con anticuerpos monoclonales) se administran por vía parenteral de una manera no dirigida y deben difundirse o de cualquier otra manera encontrar su camino hacia el sitio de la afección antes de que puedan proporcionar sus beneficios terapéuticos. Este "enfoque de escopeta" a la terapia requiere necesariamente una dosificación más alta y puede resultar en períodos de terapia más largos y un cumplimiento del paciente reducido que un enfoque terapéutico que suministraría compuestos y composiciones terapéuticas de una manera más dirigida que permitiría una liberación controlada o programable en o cerca del sitio de la afección en un ser humano o animal veterinario.

Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de sistemas de suministro de fármacos - es decir, composiciones y métodos de uso - que superarán muchas de estas deficiencias en los tratamientos tradicionales para determinadas enfermedades y trastornos en humanos y animales veterinarios. Tales sistemas avanzados de suministro de fármacos permitirían el uso de dosis más bajas de medicamento y un suministro más dirigido de los medicamentos a los sitios de acción previstos, así como también reducir los problemas o retrasos terapéuticos resultantes del incumplimiento del paciente. También existe la necesidad de dispositivos médicos recubiertos con tales composiciones que facilitarán la cicatrización y recuperación más rápida en humanos y animales que padecen de tales enfermedades y trastornos. Finalmente, existe la necesidad en la técnica de métodos para producir tales composiciones y dispositivos médicos que satisfagan las necesidades de las comunidades médica y de pacientes para maximizar las eficacias del tratamiento mientras se reducen los costos.

Breve resumen de la invención

Los presentes inventores razonaron que, dado que la interrupción del colágeno se asocia con una variedad de enfermedades y trastornos en humanos y otros animales, la conjugación de una variedad de compuestos terapéuticos y/o compuestos de diagnóstico con colágeno o péptidos miméticos de colágeno proporcionaría una forma elegante, rápida y reproducible de superar muchas de las limitaciones mencionadas anteriormente en el suministro de fármacos. En consecuencia, la presente invención satisface las necesidades en la técnica como se expresa en la presente descripción.

La invención se expone en las reivindicaciones que se adjuntan. En un aspecto, la invención proporciona una composición para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior, en donde dicha enfermedad ocular del segmento posterior involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico en un ser humano o animal veterinario que necesita tratamiento de dicha enfermedad o trastorno, dicha composición comprende (a) al menos un péptido mimético de colágeno (CMP) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6, y (b) uno o más portadores farmacéuticamente adecuados. En determinadas modalidades, las composiciones que comprenden uno o más péptidos miméticos de colágeno (CMP), que se han conjugado con uno o más compuestos terapéuticos y/o uno o más compuestos de diagnóstico, formando de esta manera conjugados y composiciones de CMP. Tales CMP y conjugados de CMP, y composiciones que comprenden tales CMP y/o conjugados de CMP, son útiles para tratar, mejorar y diagnosticar una variedad de enfermedades, trastornos y afecciones físicas en humanos y animales veterinarios. En determinadas modalidades de este aspecto, la invención proporciona composiciones que comprenden tales CMP y/o conjugados CMP y uno o más portadores, excipientes o agentes de formulación farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente uno o más agentes terapéuticos o de diagnóstico adicionales, para proporcionar composiciones terapéuticas y de diagnóstico útiles en el tratamiento, mejora o diagnóstico de determinadas enfermedades y trastornos en seres humanos y animales veterinarios.

En otro aspecto, la invención como se reivindicó proporciona una composición para su uso en métodos de tratamiento, mejora o diagnóstico de una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior en humanos y animales veterinarios, mediante la administración de los conjugados y/o composiciones de la invención como se reivindicó a un ser humano o animal veterinario que padece o está predispuesto a tales enfermedades o trastornos, en donde dicha enfermedad ocular del segmento posterior involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico en un ser humano o animal veterinario que necesita tratamiento de dicha enfermedad o trastorno, y en donde dicha composición que comprende (a) al menos un péptido mimético de colágeno (CMP) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6, y (b) uno o más portadores farmacéuticamente adecuados.

Otros objetos, ventajas y características de la presente invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica tras la revisión de la descripción, dibujos, ejemplos y reivindicaciones presentados en la presente descripción.

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1 es una serie de fotomicrografías que representan la cicatrización de una herida en la córnea del ojo de ratón, a las 0 y 16 horas después de la herida, tras el tratamiento con determinadas composiciones. Se introdujeron heridas en las córneas de ratones, y los ratones se trataron inmediatamente después de la herida con vehículo (PBS; Figura 1a, 1e), con 100 ng/ml de factor de crecimiento epidérmico (EGF; Figura 1b, 1f), o con 25 nM (aproximadamente 3 mg/kg) de un CMP (Pro-Pro-Gly)₇ (SEQ ID NO:1) ("Compuesto 3"; Figura 1c, 1g), o

de un CMP-TC (Hyp-Pro-Gly)₇-SubP (SEQ ID NO:391) ("Compuesto 10"; Figura 1d, 1h). El alcance de la abrasión corneal restante y el daño al estroma corneal subyacente se reveló después con tinción de fluoresceína y fotomicrografía de fluorescencia de los ojos en el tiempo 0 (Figuras 1a-1d) y 16 horas (Figuras 1e-1h) después de la herida. Las Figuras 1i y 1j son fotomicrografías de secciones delgadas teñidas con H-E de tejido epitelial y subepitelial corneal 24 horas después de la herida y tratadas con PBS (Figura 1i) o Compuesto 3 (Figura 1j).

La Figura 2 es un fotomicrografía de alta potencia de secciones teñidas con H-E de la córnea de las Figuras 1i y 1j anteriores. Figura 2a: Sección tratada con PBS; Figura 2b: Sección tratada con el Compuesto 3. Las flechas representan la ausencia de (Figura 2a) o la presencia de (Figura 2b) membrana basal.

La Figura 3 es un gráfico de barras de la longitud de la adherencia de la capa epitelial en tejido corneal dañado tratado con PBS, EGF, Compuesto 3 o Compuesto 10, 24 horas después del tratamiento, frente a la córnea no dañada (inocua). Las barras de error son media $\pm$ SEM, n=3.

La Figura 4 es un fotomicrografía de contraste de fase de células epiteliales pigmentarias retinianas (RPE) sembradas en placas de cultivo de tejido tratadas con colágeno y collagenasa incubadas durante la noche después de la siembra. Después del tratamiento con collagenasa, las placas se trataron con vehículo (PBS; Figura 4a) o con Compuesto 3 (Figura 4b) antes de sembrar las células.

La Figura 5 representa fotomicrografías de DIC de alto aumento de las placas tratadas con collagenasa recubiertas de colágeno del experimento mostrado en la Figura 4. Figura 5a: placas tratadas con vehículo; Figura 5b: placas tratadas con Compuesto 3.

La Figura 6 es un gráfico de barras que representa el grado de orientación paralela (es decir, unidireccional) del colágeno observado en placas tratadas con collagenasa recubiertas de colágeno de las Figuras 4 y 5, tratadas con PBS (vehículo) o Compuesto 3, cuantificado mediante el uso de análisis digital de los micrografías mostradas en la Figura 5 y subyacentes al gráfico de barras.

La Figura 7 es un gráfico de barras (y fotomicrografías correspondientes) del número de núcleos de células RPE por unidad de área para células sembradas en placas de cultivo tratadas con vehículo (PBS; Figura 7a) o Compuesto 3 (Figura 7b).

La Figura 8 es una serie de fotomicrografías de la parte inferior de los insertos de membrana de cultivo de tejido teñidos con violeta cristal recubiertos con vehículo (agua; Figura 8a), colágeno nativo tipo I (Figura 8b) o Compuesto 3 (Figura 8c), sobre el lado apical del cual las células RPE se depositaron y se les permitió migrar durante 24 horas.

La Figura 9 es un gráfico de barras del número de células que migran y se adhieren al lado basal de las membranas de la Figura 8, determinado mediante el recuento microscópico de células dentro de campos de aumento de 10x y 20x, seis campos por inserto de membrana.

La Figura 10 es un gráfico de barras que demuestra una repetición del experimento representado en las Figuras 8 y 9, excepto que solo las superficies apicales de la membrana transwell se recubrieron con vehículo, colágeno humano nativo tipo I o Compuesto 3. Después, las células se sembraron, se incubaron y se dejaron migrar, y se cuantificaron como se describe en la Figura 9.

La Figura 11 demuestra la escisión del colágeno tipo I por la metaloproteínasa de matriz 1 (MMP-1) en un ensayo in vitro. Figura 11A: SDS-PAGE reducida teñida de atelocolágeno de tipo I humano no tratado ("carril de colágeno") o tratado con MMP-1 ("carril de colágeno escindido"). TC^A: fragmento ¾ de colágeno α 1(I); TC^B: fragmento ¼ de colágeno α 2(I). Las flechas indican las bandas α 1(I) y α 2(I) cuantificadas en la Figura 11B. Figura 11B: gráfico de barras que muestra la cuantificación de las bandas de α 1(I) y α 2(I) de longitud completa en colágeno no tratado frente a colágeno escindido por MMP-1.

La Figura 12 es una serie de fotomicrografías de contraste de fase de células epiteliales del pigmento de la retina (RPE) (línea celular ARPE-19) sembradas en placas de cultivo de tejidos que se habían recubierto durante la noche con colágeno tipo I ("Colágeno"; Figura 12A) o con colágeno tipo I digerido por MMP-1 ("Colágeno Cortado"; Figuras 12B-D). Después del recubrimiento, las placas se trataron con vehículo (PBS; Figuras 12A y 12B) o con CMP A (SEQ ID NO:3) (Figura 12C) o CMP B (SEQ ID NO:6) (Figura 12D) antes de sembrar las células. Las células se incubaron durante 19 horas a 37 °C durante 19 horas antes de la fotomicrografía.

La Figura 13 es un gráfico de barras de la cantidad de adherencia celular de células RPE observada en las diversas condiciones descritas y representadas en la Figura 12, que incluye el tratamiento con CMP A (SEQ ID NO:3), B (SEQ ID NO:6), C (SEQ ID NO:391) o D (SEQ ID NO: 13). Todos los datos se normalizaron a la adherencia observada en las réplicas de "Colágeno cortado". *: p $\leq$ 0,005 frente a Colágeno cortado. Figura 13A: todas las muestras mostradas; Figura 13B: reescalado de los datos mostrados en la Figura 13A, con los datos de "Colágeno" excluidos para mayor claridad. Las barras de error son media $\pm$ SEM, n=3.

La Figura 14 es una serie de fotomicrografías de campo brillante invertido de neuronas de ganglios de la raíz dorsal (DRG) sembradas en placas de cultivo de tejidos que se habían recubierto durante la noche con colágeno tipo I ("Colágeno"; Figura 14A) o con colágeno tipo I digerido por MMP-1 ("Colágeno Cortado"; Figuras 14B-F). Después del recubrimiento, las placas se trataron con vehículo (PBS; Figuras 14A y 14B) o con CMP A (SEQ ID NO:3) (Figura 14C), CMP B (SEQ ID NO:6) (Figura 14D), CMP C (SEQ ID NO:391) (Figura 14E) o CMP D (SEQ ID NO: 13) (Figura 14F) antes de sembrar las células. Las células se incubaron durante 48 horas a 37 °C durante 19 horas antes de la fotomicrografía.

La Figura 15 es un gráfico de barras del tamaño del campo de crecimiento de dendritas ("área del campo dendrítico"; Figura 15A) y la longitud de la neurita más larga (Figura 15B) en neuronas de DRG observadas en las diversas condiciones descritas y representadas en la Figura 14, que incluye el tratamiento con CMP A (SEQ ID NO:3), B (SEQ ID NO:6), C (SEQ ID NO:391) o D (SEQ ID NO: 13). Todos los datos se normalizaron a la

adherencia observada en las réplicas de "Colágeno cortado". Figura 15A: $\ast = p < 0,03$ frente a colágeno cortado; Figura 15B: $\ast = p < 0,02$ frente a colágeno cortado. Las barras de error son media $\pm$ SEM, $n=3$.

La Figura 16 es una serie de fotomicrografías de fluorescencia confocal de ojos de ratón que recibieron inyección intravítrea (Figura 16A, 16B) o aplicación ocular gota a gota en la superficie ocular (Figura 16C, 16D) de una solución de Tide Fluor™2-conjugado (Pro-Pro-Gly)₇ (SEQ ID NO:1) CMP ("TF2-CMP"). Los ratones se sacrificaron el día 3 después de la aplicación superficial de TF2-CMP, o el mismo día de la inyección intravítrea, y se determinó la localización de TF2-CMP. Las Figuras 16A y 16C muestran la localización de TF2-CMP extranuclearmente en la capa de células ganglionares de la retina (flechas: vasos sanguíneos retinianos; puntas de flechas: núcleos de células ganglionares), mientras que las Figuras 16B y 16D muestran la localización de TF2-CMP en o cerca de la membrana limitante interna (superficie vítrea) de la retina.

Descripción detallada

A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen los mismos significados que los que se entienden comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente descripción puede usarse en la práctica o prueba de la presente invención, se describen a continuación los métodos y materiales preferidos.

De acuerdo con un primer aspecto, la invención proporciona una composición para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior, en donde dicha enfermedad ocular del segmento posterior involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico en un ser humano o animal veterinario que necesita tratamiento de dicha enfermedad o trastorno, dicha composición comprende (a) al menos un péptido mimético de colágeno (CMP) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6, y (b) uno o más portadores farmacéuticamente adecuados. En determinadas modalidades, las composiciones para su uso proporcionadas por la invención comprenden (a) al menos un péptido mimético de colágeno (CMP) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6 unido a al menos un compuesto terapéutico adicional (TC) para formar un conjugado CMP-TC, y (b) uno o más portadores farmacéuticamente adecuados. En otras modalidades relacionadas, las composiciones para su uso proporcionadas por la invención comprenden (a) al menos un péptido mimético de colágeno (CMP) y (b) al menos un compuesto terapéutico adicional, en donde el CMP y el al menos un compuesto terapéutico adicional se mezclan en una formulación, o "se coformulan", opcionalmente junto con uno o más portadores farmacéuticamente adecuados.

En modalidades de la invención como se reivindicó, el péptido mimético de colágeno comprende, consiste esencialmente en o consiste en una secuencia de aminoácidos que es o corresponde a un 21-mer que comprende siete repeticiones de una secuencia de tres aminoácidos en la que la fluoroprolina (Flp) se ha sustituido por prolina₁ en SEQ ID NO:1 y la hidroxiprolina (Hyp) se ha sustituido por prolina₂ en SEQ ID NO:1, lo que produce una secuencia de siete repeticiones de fluoroprolina-hidroxiprolina-glicina ((Flp-Hyp-Gly)₇), es decir, una secuencia de aminoácidos de: Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly (SEQ ID NO:6).

En los CMP que contienen Flp, el resto Flp puede estar en la configuración 4-*cis* o 4-*trans*, y preferentemente está en la configuración 4-*cis*.

Los CMP descritos en la presente descripción son adecuados para una variedad de propósitos. Por ejemplo, como se describe con más detalle en la presente descripción, los CMP pueden usarse en una variedad de aplicaciones terapéuticas o aplicaciones preventivas al aplicarse directamente o introducirse en el cuerpo de un ser humano o animal veterinario, particularmente en sitios de interrupción del colágeno o ruptura potencial del colágeno, donde los CMP descritos en la presente descripción se localizarán directamente en el sitio de interrupción del colágeno, se hibridan a las hebras de colágeno interrumpidas y estabilizan la estructura del colágeno de manera que resisten la interrupción adicional, y en algunos casos reforman una triple hélice de colágeno nativo en el sitio de interrupción del colágeno. Tales aplicaciones son útiles para promover la reparación y el fortalecimiento del colágeno interrumpido en sitios de lesión o lesión o interrupción potencial, por ejemplo, en heridas, enfermedades, anomalías o trastornos estructurales (por ejemplo, cicatrices, formación de arrugas, etc.). Los CMP descritos en la presente descripción también son útiles para proporcionar recubrimientos biocompatibles para determinados dispositivos médicos, para promover la cicatrización de lesiones y trastornos en áreas del cuerpo donde tales dispositivos se usan en el tratamiento de determinadas enfermedades, trastornos y anomalías estructurales o lesiones en humanos y animales veterinarios, particularmente aquellos en los que tales enfermedades, trastornos y anomalías estructurales o lesiones implican la interrupción del colágeno y/o estructuras que contienen colágeno. Los CMP descritos en la presente descripción también son útiles para proporcionar un vehículo de suministro único adecuado para suministrar una variedad de compuestos, composiciones y medicamentos terapéuticos a los sitios de enfermedad, trastorno y anomalía estructural o lesión en humanos y animales veterinarios, particularmente para su uso en el tratamiento, o mejora de enfermedades, trastornos, afecciones médicas y anomalías estructurales o lesiones en las que la interrupción del colágeno es la causa de, se asocia con, o colocaliza con el sitio de la enfermedad, trastorno y anomalía estructural o lesión. En modalidades adicionales, los CMP descritos en la presente descripción son útiles para proporcionar agentes de diagnóstico adecuados para diagnosticar o detectar una enfermedad, trastorno, anomalía

estructural o lesión en humanos y animales veterinarios. En determinados de tales aspectos, los CMP pueden coformularse o conjugarse directa o indirectamente con uno o más compuestos, agentes, marcadores de diagnóstico y similares adecuados (ver, por ejemplo, patentes de Estados Unidos núms. 8,283,414 y 8,883,964). Otros usos adecuados de los CMP descritos en la presente descripción y usados en determinados aspectos de la presente invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica en base a la descripción en la presente descripción y la información que está fácilmente disponible en la técnica.

En determinadas modalidades, los CMP descritos en la presente descripción son adecuados para la formación en una película, oblea, membrana o gel que comprende uno o más de los CMP en una forma adecuada para la introducción o implantación en un ser humano o animal para aplicaciones terapéuticas o de diagnóstico tales como las descritas en la presente descripción y otras que serán familiares para los expertos en las técnicas pertinentes. Por ejemplo, las películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas o geles pueden formarse a partir de una solución de uno o más de los CMP descritos en la presente descripción mediante el uso de métodos tales como los descritos en las patentes de Estados Unidos núms. 6,197,934; 6,448,378; y 9,289,396. Alternativamente, las películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas o geles pueden formarse a partir de otros materiales, tales como atelocolágeno (ver las patentes de Estados Unidos núms. 6,197,934; 6,448,378; y 9,289,396), copolímeros de poli(ácido láctico) y poli(ácido glicólico) (PLGA) (ver Bala, I., y otros, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 21(5):387-422 (2004)), y otros materiales que se conocen por los expertos en la técnica (ver, por ejemplo, Kumar, V., y otros, eds., "Polymer Gels: Perspectives and Applications", ISBN 978-981-10-6079-3, Singapur: Springer (2018)), y uno o más de los CMP pueden incorporarse adecuadamente en tales películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas, geles, etc., durante la formación de estas mediante la inclusión de los CMP en la solución, a concentraciones de aproximadamente 1 %-99 %, aproximadamente 2 %-95 %, aproximadamente 3 %-90 %, aproximadamente 4 %-90 %, aproximadamente 5 %-90 %, aproximadamente 10 %-90 %, aproximadamente 15 %-90 %, aproximadamente 20 %-90 %, aproximadamente 25 %-90 %, aproximadamente 25 %-85 %, aproximadamente 25 %-75 %, aproximadamente 25 %-50 %, aproximadamente 35 %-50 %, y similares. Otras cantidades o concentraciones adecuadas de los CMP descritos en la presente descripción que pueden incluirse adecuadamente en las soluciones durante la formación de las películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas, geles, etc., serán fácilmente evidentes a partir de las enseñanzas en la presente descripción y de la información fácilmente disponible en la técnica para el experto en la técnica. En determinadas de tales modalidades, uno o más compuestos terapéuticos descritos en la presente descripción, y/o uno o más conjugados CMP-TC descritos en la presente descripción, pueden incorporarse adecuadamente en la solución a partir de la cual se forman las películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas, geles, etc. Alternativamente, en aspectos relacionados, una o más películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas, geles, etc., una vez formadas como se describió anteriormente, pueden tratarse o recubrirse con uno o más CMP y/o conjugados CMP-TC descritos en la presente descripción, al sumergir las películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas, geles, etc., en una solución, particularmente una solución acuosa tamponada, que contiene una cantidad o concentración adecuada (tal como las descritas en la presente descripción) de uno o más CMP o conjugados CMP-TC descritos en la presente descripción, y después secar las películas, obleas, membranas, etc., antes de usarlas en métodos terapéuticos, preventivos o diagnósticos tales como los descritos en la presente descripción.

Unión/Conjugación de los CMP

En determinadas modalidades de la invención como se reivindicó, los CMP descritos en la presente descripción se unen o conjugan adecuadamente a uno o más compuestos terapéuticos o de diagnóstico, para producir compuestos conjugados de CMP. Los compuestos conjugados de compuesto terapéutico-CMP o compuesto de diagnóstico-CMP pueden introducirse entonces en el cuerpo de un ser humano o animal veterinario, en métodos de tratamiento y/o diagnóstico de determinadas enfermedades, trastornos y anomalías estructurales en seres humanos o animales veterinarios que padecen de los mismos. En consecuencia, en determinadas modalidades, la presente invención como se reivindicó proporciona el uso de los CMP descritos en la presente descripción unidos o conjugados a uno o más compuestos terapéuticos para producir CMP conjugados, composiciones que comprenden tales CMP conjugados (que pueden comprender opcionalmente uno o más ingredientes terapéuticos o farmacéuticamente activos adicionales), y métodos para usar tales conjugados y composiciones en el tratamiento y diagnóstico de una variedad de enfermedades, trastornos y afecciones médicas en humanos y animales veterinarios.

Los conjugados de CMP y al menos un compuesto terapéutico (que puede describirse en la presente descripción como "conjugados CMP-TC") de acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó comprenderán al menos un CMP descrito en la presente descripción unido a al menos un compuesto terapéutico para formar un conjugado CMP-TC. Los CMP usados adecuadamente en tales aspectos de la invención como se reivindicó incluyen CMP que tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a la SEQ ID NO:6, y particularmente en donde los CMP tienen una secuencia de aminoácidos correspondiente a la SEQ ID NO:393. Otras secuencias de CMP adecuadas serán inmediatamente evidentes para un experto en la técnica en base a las enseñanzas contenidas en la presente descripción.

Los métodos para preparar los CMP y los CMP-TC descritos en la presente descripción y proporcionados y usados en la presente invención como se reivindicó serán familiares para los expertos en la técnica en base a las enseñanzas en la presente descripción e información que está fácilmente disponible en la técnica. Por ejemplo, los CMP pueden sintetizarse mediante el uso de técnicas de síntesis de proteínas/péptidos estándar tales como las descritas en las

patentes de Estados Unidos núms. 5,973,112; 7,122,521; y 7,858,741; así como también en la publicación de patente de Estados Unidos. Núm. US 2007/0275897 A1. La síntesis de CMP también puede lograrse mediante la compra de CMP sintetizados a medida producidos comercialmente, por ejemplo, por Bachem (Torrance, CA, Estados Unidos) y RS Synthesis (Louisville, KY, Estados Unidos). En otras modalidades, la síntesis de CMP puede lograrse mediante el uso de ingeniería genética y expresión recombinante de los CMP a partir de sistemas de expresión procariota o eucariota (ver, por ejemplo, Buechter, D.D., y otros, J. Biol. Chem. 278(1):645-650 (2003)).

En la síntesis de los péptidos descritos en la presente descripción, en determinadas modalidades se prefiere que se usen determinadas estereoquímicas para las sustituciones de aminoácidos, particularmente si se usan hidroxiprolina, fluoroprolina o cloroprolina:

(1) si la hidroxiprolina se sustituye en lugar de prolina en la posición Yaa del trímero Xaa-Yaa-Gly indicado en la presente descripción, en determinadas modalidades la hidroxiprolina tiene una estereoquímica (2R, 4S), o una *cis* o *trans*, y preferentemente una estereoquímica *cis*; y

(2) si la fluoroprolina se sustituye en lugar de prolina en la posición Yaa del trímero Xaa-Yaa-Gly indicado en la presente descripción, en determinadas modalidades la hidroxiprolina tiene una estereoquímica (2R, 4S), o una *cis* o *trans*, y preferentemente una estereoquímica *cis*.

Otras estereoquímicas adecuadas pueden determinarse empíricamente sin tener que recurrir a experimentación indebida, y serán inmediatamente evidentes para los expertos en la técnica.

Una vez que se han preparado los CMP, se usan adecuadamente en la producción de los CMP-TC de la invención como se reivindicó, es decir, las composiciones terapéuticas o diagnósticas de la invención, al unir uno o más compuestos terapéuticos a los CMP. Los CMP-TC de la invención como se reivindicó pueden prepararse mediante un método que comprende (a) proporcionar un péptido mimético de colágeno que tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente a la SEQ ID NO:6; (b) proporcionar al menos un compuesto terapéutico o de diagnóstico adecuado para conjugarse al CMP; y (c) unir el compuesto terapéutico o de diagnóstico directa o indirectamente al CMP. En determinados casos, particularmente en donde el compuesto terapéutico es un compuesto biológico peptídico pequeño, el compuesto terapéutico puede unirse directamente al CMP a través de un enlace peptídico, por ejemplo, simplemente extendiendo la síntesis del péptido más allá del extremo carboxi terminal del CMP y uniendo el aminoácido amino terminal del compuesto terapéutico al aminoácido carboxi terminal del CMP a través de un enlace peptídico. Un ejemplo de tal CMP-TC es un conjugado peptídico en el que el péptido de cicatrización de heridas conocido como Sustancia P y que tiene una secuencia de aminoácidos de Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met (SEQ ID NO:389), se une a un CMP descrito en la presente descripción. Los ejemplos de tales conjugados incluyen, por ejemplo:

Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-Flp-Hyp-Gly-
Flp-Hyp-Gly-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met (SEQ ID NO:393).

El uno o más compuestos terapéuticos o de diagnóstico se conjugan o unen adecuadamente a los CMP mediante un enlace covalente distinto de un enlace peptídico (ver, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núms. 3,283,414 y 3,883,964). Por ejemplo, los compuestos terapéuticos pueden unirse directamente a un residuo de cisteína o metionina en un CMP descrito en la presente descripción mediante la unión covalente de un grupo hidroxilo o amino en un residuo de aminoácido (por ejemplo, un residuo de lisina) en el compuesto terapéutico o diagnóstico (si es una molécula biológica) a un grupo tiol en el residuo de cisteína o metionina del CMP. Alternativamente, si el CMP no contiene un residuo de cisteína o metionina, el uno o más compuestos terapéuticos o diagnósticos pueden unirse o conjugarse al CMP mediante una reacción entre un grupo hidroxilo o grupo amino en el CMP y un grupo sulfhidrilo en un residuo de aminoácido (por ejemplo, en un residuo de cisteína o metionina) en el compuesto terapéutico o diagnóstico (si es una molécula biológica). En aún otro método alternativo de conjugación, los compuestos terapéuticos pueden unirse directamente a un residuo de lisina en un CMP descrito en la presente descripción mediante la unión covalente del compuesto terapéutico a un grupo amino en la lisina, por ejemplo mediante el uso de conjugación de éster de NHS (ver, por ejemplo, Mattson, G., y otros, Molec. Biol. Rep. 17:167-183 (1993); Grabarek, Z. y Gergely, J., Anal. Biochem. 185:131-135 (1990); Staros, J.V. y otros, Anal. Biochem. 156:220-2 (1986); Timkovich, R., Anal. Biochem. 79:135-43 (1977)). Tales uniones o conjugaciones covalentes directas entre el CMP y el compuesto terapéutico/diagnóstico pueden lograrse mediante el uso de técnicas de reacción estándar que serán familiares para los expertos en la técnica en química orgánica.

En otras modalidades, particularmente aquellas en donde el compuesto terapéutico o diagnóstico no es un biológico (y por lo tanto no tiene una estructura peptídica o residuos de aminoácidos que tienen grupos adecuadamente unibles a cisteína, metionina, lisina u otros residuos en el CMP), tales como compuestos terapéuticos u orgánicos o inorgánicos de molécula pequeña, el al menos un compuesto terapéutico o diagnóstico se une indirectamente al péptido mimético de colágeno mediante el uso de un medio de unión. En tales modalidades, los medios de unión tienen dos extremos unibles, uno de los cuales se une a un residuo de aminoácido, y adecuadamente un grupo sulfhidrilo en un residuo de cisteína o metionina o un grupo amino en un residuo de lisina, de un CMP, y el otro se une

a un grupo hidroxilo o amino en el compuesto terapéutico o diagnóstico. Por ejemplo, en determinadas de tales modalidades, los medios de unión comprenden al menos una cadena polimérica que tiene un primer extremo y un segundo extremo, y el primer extremo de la cadena polimérica se une al grupo sulfhidrilo en un residuo de cisteína o metionina o un grupo amino en un residuo de lisina en el péptido mimético de colágeno y el extremo opuesto o segundo de la cadena polimérica se une a un grupo amino o grupo hidroxilo en el compuesto terapéutico. En modalidades donde el compuesto terapéutico o diagnóstico es un biológico que no es adecuado para unirse directamente mediante síntesis de péptidos como se describe en otra parte en la presente descripción, el segundo extremo del medio de unión puede unirse a un grupo amino en un residuo de aminoácido, tal como un residuo de lisina, en el compuesto terapéutico o diagnóstico biológico. Tales medios de unión adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, un medio de unión adecuado para su uso de acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó incluye un resto que es una cadena polimérica que en un extremo (el extremo de unión a CMP en particular) comprende un grupo de unión a sulfhidrilo tal como una maleimida, y en el otro extremo (el extremo de unión a compuesto terapéutico o diagnóstico en particular) comprende un grupo de unión a amino tal como N-hidroxisuccinimida. En determinadas de tales modalidades, la cadena polimérica es una cadena de polietilenglicol lineal que comprende al menos cuatro monómeros de etilenglicol, por ejemplo, de cuatro a cincuenta monómeros de etilenglicol, de diez a cuarenta monómeros de etilenglicol, de quince a treinta monómeros de etilenglicol, de quince a veinticinco monómeros de etilenglicol, de veinte a veinticinco monómeros de etilenglicol, y particularmente cuatro, seis, ocho, doce, veinte, veintidós, veintitrés, veinticuatro o veinticinco monómeros de etilenglicol. Tales medios de unión adecuados para unir uno o más compuestos terapéuticos o diagnósticos a un CMP mediante los métodos descritos en la presente descripción están disponibles comercialmente, por ejemplo, de Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA) (por ejemplo, SM(PEG)6, SM(PEG)8, SM(PEG)12 y SM(PEG)24). Al ajustar la longitud de la cadena polimérica, puede modularse la biodisponibilidad y sostenibilidad del compuesto terapéutico o diagnóstico *in vivo* - el uso de cadenas poliméricas más largas, por ejemplo, un polímero que comprende 24 monómeros de etilenglicol, aumentará la velocidad de biodisponibilidad del compuesto una vez que el CMP-TC se haya introducido en el cuerpo del ser humano o animal veterinario, mientras que el uso de cadenas poliméricas más cortas, por ejemplo, un polímero que comprende seis monómeros de etilenglicol, disminuirá la velocidad de biodisponibilidad y, por lo tanto, aumentará la sostenibilidad (o, en otras palabras, dará como resultado una liberación retardada o una liberación sostenida) del compuesto terapéutico o de diagnóstico. Otros conjugados que usan restos de PEG lineales o en forma de estrella que pueden prepararse adecuadamente mediante el uso de los CMP de la presente invención como se reivindicó, y que se usan en los métodos terapéuticos y de diagnóstico de la invención como se reivindicó, se describen en las patentes de Estados Unidos núms. 8,283,414 y 8,883,964. Por lo tanto, de acuerdo con determinados de tales aspectos de la invención como se reivindicó, el al menos un compuesto terapéutico comprende al menos un grupo hidroxilo reactivo capaz de reticularse al péptido mimético de colágeno mediante el uso de un enlazador polimérico.

Otros métodos de unión indirecta para conjugar el uno o más compuestos terapéuticos o de diagnóstico en o sobre los CMP también se usan adecuadamente de acuerdo con la invención como se reivindicó. Por ejemplo, el al menos un compuesto terapéutico o diagnóstico puede encerrarse dentro de al menos una nanopartícula que se une a través de un medio de unión, tal como los descritos en la presente descripción, al péptido mimético de colágeno. Alternativamente, el péptido mimético de colágeno puede comprender adecuadamente al menos un resto de biotina y la molécula terapéutica puede comprender adecuadamente al menos un resto de avidina o estreptavidina, y el resto de biotina en el péptido mimético de colágeno se unirá al resto de avidina o estreptavidina en el compuesto terapéutico o de diagnóstico, de esta manera se une el péptido mimético de colágeno al compuesto terapéutico o de diagnóstico. Por supuesto, la alternativa también es adecuada para su uso, en la que el péptido mimético de colágeno puede comprender adecuadamente al menos un resto de avidina o estreptavidina y el compuesto terapéutico o diagnóstico puede comprender adecuadamente al menos un resto de biotina, y el resto de biotina en el al menos un compuesto terapéutico o diagnóstico se unirá al resto de avidina o estreptavidina en el péptido mimético de colágeno, de esta manera se une el péptido mimético de colágeno al compuesto terapéutico.

Por lo tanto, de acuerdo con determinadas modalidades de la invención como se reivindicó, los compuestos terapéuticos o de diagnóstico pueden unirse adecuadamente directamente a los CMP descritos en la presente descripción. En otras modalidades de la invención como se reivindicó, el uno o más compuestos terapéuticos o de diagnóstico pueden unirse indirectamente a los CMP descritos en la presente descripción, por ejemplo, mediante el uso de un resto espaciador, enlazador o puente. Debe entenderse que si uno o más compuestos terapéuticos se unen directa o indirectamente a los CMP, tal unión da como resultado la producción de conjugados de los CMP y el uno o más compuestos terapéuticos, que pueden definirse en la presente descripción como conjugados CMP-TC.

Los compuestos terapéuticos o de diagnóstico adecuados para unirse o conjugarse a los CMP para producir los CMP-TC de la presente invención como se reivindicó incluyen cualquier compuesto que se ha demostrado que tiene propiedades terapéuticas o preventivas particulares contra una o más enfermedades, trastornos, afecciones o afecciones físicas cuando se introduce en un ser humano o animal veterinario que padece o está predispuesto a tales enfermedades, trastornos, afecciones o afecciones físicas. Siempre y cuando el compuesto terapéutico o de diagnóstico sea capaz de conjugarse o unirse a al menos un CMP de acuerdo con las enseñanzas en la presente descripción, cualquier compuesto terapéutico o de diagnóstico puede usarse en los conjugados, composiciones y métodos de la presente invención como se reivindicó. Tales compuestos terapéuticos adecuados pueden ser compuestos terapéuticos biológicos o no biológicos (por ejemplo, los llamados "compuestos de molécula pequeña"). Los compuestos adecuados para su uso incluyen, pero no se limitan a, un fármaco antiinflamatorio esteroideo, (por

ejemplo, prednisolona o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, tal como acetato de prednisolona), un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (por ejemplo, ácido acetilsalicílico, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno, nepafenaco, bromfenaco, diclofenaco, flurbiprofeno, cetoprofen, cetorolaco y un derivado de indeno (por ejemplo, indometacina, sulindac (Clinoril) y similares; ver, por ejemplo, patente de Estados Unidos núm. 7,601,874, para otros derivados de indeno usados adecuadamente como ingredientes farmacéuticos activos), y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos), un anestésico tópico (por ejemplo, tetracaína, lidocaína, oxibuprocaina, proparacaína y similares), una vitamina o un derivado de la vitamina o precursor de la vitamina (por ejemplo, retinol, tretinoína, retinal, caroteno y otros retinoides y derivados o precursores de retinoides; folato; α -tocoferol; calciferol; filoquinona, menadiona y otras formas, precursores o derivados de la vitamina K, ascorbato; y similares), una enzima terapéutica o un fragmento terapéutico de esta (por ejemplo, una colagenasa y una serina proteasa, o un fragmento terapéuticamente efectivo de esta), un antibiótico (por ejemplo, un antibiótico aminoglucósido (tal como gentamicina, tobramicina, paromomicina, kanamicina, neomicina y amikacina, y una sal farmacéuticamente aceptable o éster de este, por ejemplo, sulfato de tobramicina), un antibiótico de fluoroquinolona (tal como moxifloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, gemifloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina y ofloxacina, y una sal farmacéuticamente aceptable, éster o derivado de estos, por ejemplo, clorhidrato de moxifloxacina, clorhidrato de ciprofloxacina y clorhidrato de gatifloxacina), un antibiótico sulfonamida (tal como sulfacetamida, sulfadiazina, sulfadimidina, sulfafurazol (sulfisoxazol), sulfisomidina (sulfaisodimidina), sulfadoxina, sulfametoxazol, sulfamoxol, sulfantran, sulfadimetoxina, sulfametoxipiridazina, sulfametoxidiazina, sulfametopirazina y tereftilo, y una sal farmacéuticamente aceptable, éster o derivado de estos), un antibiótico β -lactámico (tal como una penicilina o un derivado de esta (por ejemplo, penicilina G, penicilina V, una bencilpenicilina y fenoximetilpenicilina), dicloxacilina, flucloxacilina, oxacilina, nafcilina, amoxicilina, una ampicilina, ticarcilina, piperacilina, ritipenem, un carbapenem (por ejemplo, ertapenem, doripenem, imipenem y una sal farmacéuticamente aceptable, éster o derivado de estos), un cefem (tal como cefazolina, cefalexina, cefadroxil, cefapirina, cefaclor, cefotetan, cefamicina (cefoxitina), cefprozil, cefuroxima axetilo, ceftriaxona, ceftazidima, cefoperazona, cefdinir, cefcapeno, cefdaloxima, ceftizoxima, cefmenoxima, cefotaxima, cefpiramida, cefpodoxima, ceftibuteno, cefditoreno, cefepima, ceftarolin fosamil, ceftolozano, ceftobiprol, ceftiofur, cefquinoma y cefovecina, y una sal farmacéuticamente aceptable, éster o derivado de estos), una monobactama (tal como aztreonam o y una sal farmacéuticamente aceptable, éster o derivado de este) y un inhibidor de β -lactamasa (tal como sulbactam, tazobactam, clavulanic acid y avibactam, y una sal farmacéuticamente aceptable, éster o derivado de estos)) o un antibiótico peptídico cíclico (tal como ciclosporina), un anticuerpo monoclonal terapéutico o un fragmento terapéutico de este (tal como adalimumab, altumomab, atezolizumab, atlizumab, bevacizumab, canakinumab, catumaxomab, certolizumab, cetuximab, clivatuzumab, edrecolomab, efalizumab, fontolizumab, girentuximab, golimumab, infliximab, labetuzumab, MAbp1 (XilonixTM), natalizumab, nimotuzumab, nivolumab, oregovomab, panitumumab, pembrolizumab, pentumomab, pertuzumab, ramucirumab, ranibizumab, rituximab, ruplizumab, tracatuzumab, tocilizumab, trastuzumab, ustekinumab, vedolizumab, visilizumab, votumumab, zalutumumab y zanolimumab, y fragmentos activos, combinaciones o conjugados de estos), una proteína de fusión terapéutica (en determinadas modalidades, una proteína de fusión recombinante tal como aflibercept (Regeneron), etanercept (Amgen), alefacept (Astellas Pharma), abatacept (Bristol-Myers Squibb), rilonacept (Regeneron), romiplostim (Amgen) y belatacept (Bristol-Myers Squibb)), un análogo de prostaglandina (tal como latanoprost, travoprost, tafluprost, unoprostone, netarsudil, tatanoprosteno bunod, netarsudil y bimatoprost, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos), un factor de crecimiento (tal como EGF, PDGF, TGF- β , IGF-1, VEGF, FGF- β , IGF-1) o un fragmento terapéutico o promotor del crecimiento (particularmente promotor del crecimiento de la piel) de este, un neuropéptido (tal como Sustancia P (SEQ ID NO:389), un antagonista α -adrenérgico (tal como brimonidina, clonidina y apraclonidina, y sales, ésteres o derivados farmacéuticamente aceptables de estos), un antagonista β -adrenérgico (tal como timolol, propranolol, atenolol, levobunolol, carteolol, betaxolol, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos, por ejemplo, maleato de timolol), un antagonista de receptor de superficie celular (tal como lifitegrast o etanercept), un inhibidor de la anhidrasa carbónica (tal como dorzolamida, brinzolamida, metazolamida y acetazolamida, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos, por ejemplo, clorhidrato de dorzolamida), y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos. Con determinados tales compuestos terapéuticos, la administración simultánea con los CMP descritos en la presente descripción, ya sea como un conjugado CMP-TC o simplemente con uno o más CMP y uno o más TC en una mezcla o aplicados por separado, puede prevenir, atenuar o disminuir uno o más efectos secundarios adversos del compuesto terapéutico. Por ejemplo, se sabe que la administración terapéutica de determinados antibióticos de fluoroquinolona puede causar daño al colágeno y las estructuras que contienen colágeno (por ejemplo, tendones) en humanos o animales veterinarios que se han tratado con fluoroquinolonas (ver, por ejemplo, "FDA Drug Safety Communication: FDA updates warnings for oral and injectable fluoroquinolone antibiotics due to disabling side effects," disponible el 6 de noviembre de 2017, en <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm511530.htm>). Como resultado, la administración simultánea o conjunta de uno o más de los CMP descritos en la presente descripción con uno o más antibióticos de fluoroquinolona a un ser humano o animal veterinario que necesita tratamiento con fluoroquinolonas puede permitir que el paciente reciba los beneficios terapéuticos de la fluoroquinolona mientras se mitiga, mejora o evita la interrupción del colágeno resultante de dicha terapia, ya que el CMP puede localizarse y reparar áreas de colágeno dañado *in vivo*.

Otros compuestos terapéuticos adecuados para su uso en los compuestos, composiciones y conjugados de CMP-TC de la presente invención como se reivindicó incluyen otros compuestos terapéuticos de molécula pequeña no biológica, que incluyen, entre otros, agentes alquilantes, antibióticos antitumorales, antimetabolitos, agentes hormonales, alcaloides vegetales, inhibidor de la angiogénesis, agonistas de GnRH, inhibidores de la tirosina cinasa,

y similares. Los ejemplos de tales compuestos terapéuticos de moléculas pequeñas no biológicas usados adecuadamente de acuerdo con la invención como se reivindicó incluyen, pero no se limitan a, una nitrosourea, una lenalidomida, imatinib, penatrexed, bortezomib, acetato de abiraterona, everolimus, taxol, docetaxel, paclitaxel, carbazitaxel, mitoxantrona, carboplatino, cisplatino, gemcitabina, doxorubicina, casodex, flutamida, enzalutamida, abiraterona, sipuleucel-T y ketoconazol. Otros compuestos terapéuticos de moléculas pequeñas no biológicas adecuados que se usan ventajosamente en la formación de los conjugados CMP-TC de la presente invención como se reivindicó, particularmente para producir conjugados CMP-TC que son útiles en el tratamiento de determinados cánceres y la prevención de la metástasis tumoral, incluyen inhibidores de enzimas lisil oxidasa (LOX), similares a la lisil oxidasa 1 (LOXL1) y similares a la lisil oxidasa 2 (LOXL2). Se ha sugerido que tales inhibidores tienen una posible aplicación terapéutica en el tratamiento y/o la prevención de determinados cánceres y la metástasis de tumores sólidos (ver, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núms. 5,201,456; 5,120,764; 5,252,608; 8,461,303; 8,658,167; 8,680,246; 9,176,139; 9,255,086; y 9,289,447; ver también Erler, J.T., y otros, *Nature* 440:1222-1226 (2006); Erler, J.T., y otros, *Cancer Cell* 15(1):35-44 (2009); Bondareva, A., y otros, *PLoS ONE* 4(5):e5620 (2009); Granchi, C., y otros, *ChemMedChem* 4(10):1590-1594 (2009); y Fang, M., y otros, *Tumor Biol.* 35:2871-2882 (2014)). En aspectos relacionados de la invención como se reivindicó, los conjugados CMP-TC que comprenden uno o más inhibidores de LOX o enzimas similares a LOX se usan adecuadamente en el tratamiento y/o la prevención de determinadas enfermedades y trastornos fibróticos que están mediados por enzimas oxidoreductasas tales como LOX y las enzimas similares a LOX (por ejemplo, LOXL1 y LOXL2) en humanos y animales veterinarios. Las enfermedades y trastornos fibróticos que se tratan y/o previenen adecuadamente de acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó incluyen, pero no se limitan a, fibrosis pulmonar, cirrosis hepática, fibrosis miocárdica, cicatrices quirúrgicas, esclerosis sistémica, esclerodermia, formación de queloides, vitreo retinopatía proliferativa y otras enfermedades y trastornos fibróticos que serán familiares para los expertos en la técnica. Los inhibidores de proteínas LOX y similares a LOX particularmente útiles incluyen β -aminopropionitrilo y determinados derivados y profármacos de estos (ver, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núms. 5,201,456; 5,120,764; 5,252,608; 8,461,303; 8,680,246; 9,176,139; y 9,255,086), así como también anticuerpos (que pueden ser policlonales o, preferentemente, monoclonales) y fragmentos o porciones de estos que se unen a e inhiben la actividad o función de enzimas LOX y similares a LOX (ver, por ejemplo, Patente de Estados Unidos núm. 8,461,303).

En modalidades adicionales, pueden prepararse compuestos o composiciones que comprenden uno o más CMP y uno o más antígenos, ya sea en mezcla o coformulación de uno o más CMP con uno o más antígenos (y opcionalmente con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente adecuados), o en otros compuestos o composiciones en los que el uno o más antígenos se unen o conjugan directa o indirectamente al uno o más CMP. De acuerdo con determinados de tales aspectos, el antígeno puede ser un antígeno completo o determinante antigénico o un fragmento de este (por ejemplo, un hapteno) que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria en un ser humano o animal veterinario cuando se presenta en el contexto fisiológico apropiado al sistema inmunitario del ser humano o animal veterinario, tal como en la forma de administración del compuesto, conjugado o composición en forma de una vacuna o inmunización al ser humano o animal veterinario. Los compuestos, conjugados y composiciones útiles en tales modalidades pueden prepararse mediante coformulación o conjugación directa o indirecta de acuerdo con los métodos descritos en otra parte en la presente descripción para la coformulación y conjugación de compuestos terapéuticos con o a CMP. Los antígenos o porciones de estos adecuados para su uso en tales compuestos, conjugados y composiciones, y por lo tanto en métodos de uso de estos, incluyen cualquier molécula o partícula, o porción de estos, que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria en el ser humano o animal veterinario, que incluyen, entre otros, antígenos (por ejemplo, proteínas, toxinas, lípidos, y otros restos antigénicos, moléculas o complejos) que surgen o se producen por bacterias (en las que el antígeno puede comprender el bacterio entero o una porción de este, tal como una pared celular o un componente de membrana celular, un componente nuclear o una toxina producida por el bacterio), virus (en los que el antígeno puede comprender la partícula viral completa o una porción de esta, tal como un componente de abrigo (por ejemplo, una proteína o lípido o porción de este), un componente nuclear, o una enzima codificada por lo que es parte de la partícula viral), protistas, hongos, plantas (que pueden incluir irritantes o alérgenos de plantas tales como partículas de polen), animales (de los cuales el antígeno o porción de este puede ser un antígeno alogénico o antígeno autógeno, o una porción de este), y similares; ejemplos de tales antígenos o porciones de estos serán fácilmente familiares para los expertos en las técnicas pertinentes. Tales compuestos, composiciones o conjugados se usan adecuadamente en métodos para tratar y/o prevenir uno o más trastornos, enfermedades y afecciones en humanos y animales veterinarios, por ejemplo, mediante el uso de los compuestos, composiciones o conjugados en la creación de una respuesta inmunitaria en el animal o humano veterinario. En determinados de tales métodos, una enfermedad o trastorno se trata y/o previene en el animal o animal veterinario mediante la administración de uno o más de los compuestos, composiciones o conjugados de este aspecto de la invención como se reivindicó en el ser humano o animal veterinario, tal como en forma de una vacuna o inmunización. Tales vacunas o inmunizaciones se formulan adecuadamente de acuerdo con métodos que se conocen bien en las técnicas pertinentes, y se administran de cualquier modo que dará como resultado el desarrollo de una respuesta inmunitaria por parte del ser humano o animal veterinario al antígeno o porción de este, para tratar y/o prevenir de esta manera la enfermedad o trastorno causado directa o indirectamente por el antígeno o porción de este. Tales vacunas o inmunizaciones pueden administrarse al ser humano o al animal veterinario por cualquier vía adecuada, tal como por vía oral, parenteral (que incluye subcutánea, intradérmica, transdérmica, intratecal o intravenosa), por vía ocular (por ejemplo, en forma de gotas, geles, obleas, o por inyección, como se describe en otra parte en la presente descripción para la administración de CMP-TC al ojo), intranasal y otras vías de administración que serán familiares para los expertos en la técnica. En tales modalidades, los compuestos, conjugados o

composiciones de la invención como se reivindicó se administran adecuadamente al ser humano o animal veterinario hasta que el ser humano o animal veterinario desarrolla una respuesta inmunitaria que es suficiente para tratar y/o prevenir la enfermedad o trastorno diana, y puede administrarse nuevamente según sea necesario para reforzar la respuesta inmunitaria y/o para garantizar la inmunidad continua al antígeno diana o porción de este.

Los compuestos de diagnóstico adecuados para unirse o conjugarse a CMP para producir los conjugados y composiciones de la invención como se reivindicó incluyen, pero no se limitan a, sondas marcadas, tales como colorantes fluorescentes (por ejemplo, puntos cuánticos, verde de indocianina, fluoresceína, rodamina, un colorante de merocianina, un colorante fluorescente de infrarrojo cercano, y similares); un radioisótopo, un núclido usado para PET, un núclido usado para SPECT, particularmente en donde cada uno del radioisótopo, el núclido usado para PET o SPECT se selecciona del grupo que consiste en ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{67}Cu , ^{64}Cu , ^{48}V , Tc-99m, ^{241}Am , ^{55}Co , ^{57}Co , ^{153}Gd , ^{111}In , ^{133}Ba , ^{82}Rb , ^{139}Ce , Te-123m, ^{137}Cs , ^{86}Y , ^{90}Y , $^{185/187}\text{Re}$, $^{186/188}\text{Re}$, ^{125}I , un complejo de estos, y una de sus combinaciones; y un medio de contraste de RM, un medio de contraste de TC, y un material magnético, particularmente en donde cada uno del medio de contraste de RM, el medio de contraste de TC, y el material magnético se selecciona del grupo que consiste en gadolinio, Gd-DTPA, Gd-DTPA-BMA, Gd-HP-D03A, yodo, hierro, óxido de hierro, cromo, manganeso, un complejo o complejo de quelato de este, y una de sus combinaciones. De acuerdo con tales aspectos de la invención como se reivindicó, el CMP y la sonda marcada se unen adecuadamente física o químicamente directamente entre sí, por ejemplo, a través de una conjugación directa a través de un enlace coordinado, un enlace covalente, un enlace de hidrógeno, una interacción hidrófoba o una adsorción física, o indirectamente mediante el uso de al menos un medio de unión tal como los descritos en la presente descripción y otros que se conocen en la técnica. Los métodos para conjugar o unir compuestos de diagnóstico a proteínas, tales como CMP, se conocen en la técnica (ver, por ejemplo, la solicitud de patente pública de los Estados Unidos núm. US 2012/0195828 A1).

Uso de CMP y conjugados CMP-TC

En un aspecto, la invención como se reivindicó proporciona composiciones para su uso en métodos de tratamiento, diagnóstico o mejora de una enfermedad, trastorno o afección médica o física en humanos o animales veterinarios, es decir, una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior, en donde dicha enfermedad ocular del segmento posterior involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico en un ser humano o animal veterinario. Los CMP particularmente preferidos para su uso en tales aspectos de la invención como se reivindicó incluyen CMP que comprenden, que consisten esencialmente de, o que consisten de, CMP que tienen una secuencia de aminoácidos de (Flp-Hyp-Gly)₇ (SEQ ID NO:6), y derivados de este que comprenden uno o más residuos de cisteína, metionina o lisina tales como los descritos en otra parte en la presente descripción.

Los CMP y conjugados CMP-TC de la presente invención como se reivindicó, que incluyen soluciones, geles, películas, obleas, membranas, esferas, nanopartículas y suspensiones que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten de los CMP y/o conjugados CMP-TC de la presente invención como se reivindicó, se usan adecuadamente como o incluidos en composiciones para su uso en, o como, un medicamento para tratar, prevenir o mejorar una variedad de enfermedades o trastornos oculares del segmento posterior en humanos o animales veterinarios que necesitan tratamiento o prevención de estos. Otras composiciones proporcionadas por este aspecto de la invención como se reivindicó proporcionan el uso de CMP conjugados a uno o más compuestos o moléculas de diagnóstico, tales como una o más sondas marcadas, que después se usan como reactivos de diagnóstico en una variedad de pruebas y ensayos, particularmente *in vivo* o *in situ*, para diagnosticar una enfermedad, trastorno o afección física en un ser humano o animal veterinario. Tales composiciones de medicamentos o composiciones de diagnóstico pueden comprender, además de los CMP, conjugados CMP-TC o CMP conjugados a uno o más compuestos o moléculas diagnósticos, uno o más compuestos terapéuticos adicionales o ingredientes activos farmacéuticamente (por ejemplo, uno o más antibióticos, uno o más factores de crecimiento, plasma autólogo rico en factores de crecimiento (PRGF), una o más citocinas, uno o más fragmentos de anticuerpos de estos, uno o más compuestos terapéuticos de moléculas pequeñas no biológicas, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente activos de estos, y similares, que incluyen los descritos en la presente descripción y otros que se conocen en la técnica. Las composiciones de la invención como se reivindicaron pueden comprender adicional o alternativamente uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para usar en las composiciones y métodos de la invención como se reivindicó incluyen, por ejemplo, uno o más solventes (que pueden incluir agua, un solvente orgánico o un solvente inorgánico), uno o más tampones, uno o más polímeros, uno o más sales, uno o más azúcares, uno o más alcoholes de azúcar, uno o más agentes de desintegración, uno o más agentes o portadores de aerosolización, uno o más desecantes, y similares. Otros portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para su uso en las composiciones de la presente invención como se reivindicó serán fácilmente familiares para los expertos en la técnica.

Sin desear limitarse a la teoría, se cree que los CMP proporcionados por la invención como se reivindicó y usados en los métodos de la invención como se reivindicó son útiles en particular para reparar el colágeno dañado que resulta de o que está involucrado en una variedad de enfermedades, trastornos, anomalías estructurales, condiciones físicas y condiciones médicas en humanos y animales veterinarios. Por ejemplo, cuando el colágeno se daña estructuralmente, se fragmenta y se fractura en muchas piezas más pequeñas que permanecen en el medio extracelular o que encuentran su camino en los sistemas circulatorios sanguíneo o linfático. Tales fragmentos

finalmente son fagocitados o se unen por células centinelas, o se unen a receptores de superficie celular en células somáticas en el ser humano o en animales veterinarios. Tales receptores (que pueden incluir, por ejemplo, integrinas, receptores de dominio discoide, glicoproteína VI y receptor-1 similar a inmunoglobulina asociada a leucocitos (LAIR-1)) controlan funciones celulares tales como crecimiento, diferenciación, morfogénesis, reparación de tejidos, adhesión, migración, homeostasis, función inmunitaria y cicatrización de heridas, a menudo se interrumpen, o sus funciones o sistemas de señalización se regulan positivamente o negativamente, mediante la unión de tales fragmentos de colágeno libres. De acuerdo con esta teoría, cuando los CMP se encuentran con colágeno dañado o fragmentos de este, se hibridan dinámicamente o se unen a la triple hélice de colágeno fracturado y la reparan estructuralmente, lo que da como resultado (entre otras cosas) la restauración de los receptores celulares a su función y niveles de actividad de señalización adecuados. Por lo tanto, de esta manera el resultado agregado de la aplicación de CMP a un ser humano o animal veterinario que tiene una enfermedad, trastorno, anomalía estructural o lesión que involucra o resulta de colágeno dañado es liberar un proceso de cicatrización de heridas acelerado que en algunos contextos fisiológicos incluye un crecimiento, migración y adhesión de células epiteliales, células endoteliales o células nerviosas rápido sobre la matriz de colágeno ahora reparada, lo que da como resultado la restauración de la estructura y función normales o casi normales de tales células, y tejidos, órganos y sistemas de órganos que comprenden tales células.

Las enfermedades, trastornos, afecciones físicas y afecciones médicas tratadas, mejoradas o diagnosticadas adecuadamente mediante el uso de las composiciones en los métodos de acuerdo con la invención como se reivindicó son enfermedades o trastornos oculares del segmento posterior, en donde dicha enfermedad ocular del segmento posterior involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico en un ser humano o animal veterinario.

Las enfermedades o trastornos oculares que pueden tratarse, mejorar o diagnosticarse mediante el uso de las composiciones en los métodos de acuerdo con la invención como se reivindicó incluyen, pero no se limitan a, enfermedades y trastornos del segmento posterior, particularmente aquellos que involucran la retina, que incluyen, entre otros, degeneración macular (húmeda, seca y relacionada con la edad), retinitis pigmentosa, desgarros o desprendimiento de la retina, retinopatía (por ejemplo, retinopatía diabética), oclusión arterial o venosa (por ejemplo, BRAO (oclusión de la arteria retiniana de rama), CRAO (oclusión de la arteria retiniana central), BRVO (oclusión de la vena retiniana de rama) y CRVO (oclusión de la vena retiniana central), neuritis óptica, neuropatía óptica (que incluye, por ejemplo, AION (neuropatía óptica isquémica anterior) y neuropatía óptica traumática), atrofia óptica (por ejemplo, atrofia óptica glaucomatosa), una o más neuropatías que afectan el ojo o el área alrededor del ojo, y otros trastornos y enfermedades relacionados con la retina y el segmento posterior que involucran el epitelio retiniano, particularmente el epitelio pigmentario retiniano, los vasos sanguíneos de la retina y/o los nervios ópticos, cerebrales o retinianos.

De acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó, el uso de la composición en métodos para tratar una enfermedad, trastorno o herida ocular del segmento posterior en un ser humano o animal veterinario que padece o está predispuesto a dicha enfermedad, trastorno o herida ocular, comprende administrar las composiciones descritas en la presente descripción, particularmente los conjugados CMP o CMP-TC y/o composiciones que comprenden tales conjugados, a un ojo de un ser humano o animal veterinario. Sin desear limitarse a la teoría, los inventores suponen que en áreas de enfermedad o trastorno ocular hay suficiente interrupción del colágeno tipo I de manera que el CMP se dirigirá al sitio de la enfermedad o trastorno ocular específicamente e intercalará en la estructura del colágeno, de esta manera se reconstituye directamente una matriz de colágeno que funciona o, en los casos donde el CMP se conjuga con un compuesto terapéutico, suministrará el compuesto terapéutico al sitio donde debe actuar para tratar o mejorar la enfermedad o trastorno ocular.

Los conjugados o composiciones se aplican adecuadamente al ojo en una dosis suficiente para tratar o prevenir la enfermedad, trastorno o herida ocular, y la afección del ojo en dicho ser humano o animal veterinario se monitorea después en el tiempo para mejorar el estado de la enfermedad o la condición física. Las dosis adecuadas para tales usos son concentraciones de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, aproximadamente 15 ng/ml a aproximadamente 400 ng/ml, aproximadamente 20 ng/ml a aproximadamente 300 ng/ml, aproximadamente 25 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 30 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 35 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 40 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 50 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 75 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml y aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml. En determinadas de tales modalidades, los conjugados o composiciones se aplican adecuadamente al ojo en dosis de aproximadamente 25 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, por ejemplo, aproximadamente 25 ng/ml, aproximadamente 30 ng/ml, aproximadamente 35 ng/ml, aproximadamente 40 ng/ml, aproximadamente 45 ng/ml, aproximadamente 50 ng/ml, aproximadamente 75 ng/ml, aproximadamente 100 ng/ml, aproximadamente 125 ng/ml, aproximadamente 150 ng/ml, aproximadamente 175 ng/ml, aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 225 ng/ml, aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 300 ng/ml, aproximadamente 350 ng/ml, aproximadamente 400 ng/ml, aproximadamente 450 ng/ml o aproximadamente 500 ng/ml. En tales modalidades en particular, se usan concentraciones de entre aproximadamente 25 ng/ml y 250 ng/ml. Las concentraciones y cantidades adicionales de los conjugados o composiciones de la invención como se reivindicó que se usan adecuadamente en tales métodos pueden determinarse fácilmente por un experto, en base a la información contenida en la presente descripción y que está disponible en la técnica, sin la necesidad de recurrir a experimentación indebida. Si es necesario, el conjugado o la composición de la invención como se reivindicó se administra periódicamente al

ojo, de acuerdo con los esquemas y protocolos de dosificación y tratamiento descritos en la presente descripción y otros que serán familiares para el experto en la técnica, hasta que la enfermedad, trastorno o herida ocular se cure, prevenga o mejore. En tales modalidades, los conjugados o composiciones de la invención como se reivindicó para el tratamiento de enfermedades y trastornos del segmento anterior pueden administrarse adecuadamente al ojo en forma de gotas sobre la superficie del ojo, conjuntivamente o subconjuntivamente, particularmente mediante la administración del conjugado o composición en forma de gotas sobre la superficie del ojo o en el fondo de saco subconjuntival. En otras modalidades que implican el tratamiento, la prevención, la cura o el diagnóstico de enfermedades y trastornos del segmento posterior, los conjugados y composiciones de la invención como se reivindicó pueden administrarse al segmento posterior, por ejemplo, en o cerca de la retina, mediante introducción mecánica tal como mediante inyección mediante el uso de una aguja u otro aparato adecuado, o mediante la administración del conjugado o composición a la superficie del ojo en forma de gotas, en las que el conjugado o composición (o componente de este, por ejemplo, un conjugado CMP o CMP-TC) se transporta o migra al segmento posterior del ojo (por ejemplo, en o cerca de la retina) (ver, por ejemplo, Ejemplo 5 en la presente descripción). La administración de los conjugados o composiciones al ojo puede lograrse por cualquier medio bien conocido, que incluye aplicar los conjugados o composiciones al ojo en forma de una o más gotas o alícuotas de una solución, un gel o una suspensión que contiene la composición o conjugados; mediante inyección; en forma de un material sólido tal como una oblea o película (tal como las descritas en la presente descripción) que se implanta en una estructura ocular; en forma de una malla o parche; al unir el conjugado o composición a, o encerrarlo dentro de, uno o más geles, esferas o nanopartículas que después se suministran a una estructura ocular. Otros métodos adecuados para aplicar los conjugados o composiciones al ojo para lograr los métodos terapéuticos y de diagnóstico de acuerdo con la invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica.

En otras modalidades, la administración de los conjugados o composiciones al o en el lumen del órgano puede lograrse por cualquier medio bien conocido, que incluye en forma de una solución, un ungüento, un bálsamo, un parche, una crema, una solución tópica y una oblea de liberación de fármacos. Por ejemplo, los conjugados o composiciones pueden aplicarse o introducirse en el lumen del órgano en forma de una o más gotas de solución o una suspensión que contiene la composición o conjugados; mediante inyección; en forma de un recubrimiento sobre un material sólido que se implanta en el lumen del órgano; en forma de una malla o parche; al unir el conjugado o composición a, o encerrarlo dentro de, una o más nanopartículas que después se suministran al lumen del órgano. Otros métodos adecuados para aplicar los conjugados o composiciones al o al lumen del órgano para lograr los métodos terapéuticos y de diagnóstico de acuerdo con la invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica.

En otras modalidades, la administración de los conjugados o composiciones a, cerca o dentro de los tejidos, órganos o sistemas orgánicos puede lograrse por cualquier medio bien conocido, que incluye en forma de una solución, un ungüento, un bálsamo, un parche, una película, un gel, esferas, nanopartículas, masilla, una crema, una solución tópica y una oblea de liberación de fármacos. Por ejemplo, los conjugados o composiciones pueden aplicarse a o cerca de, o introducirse en, los tejidos, órganos u sistemas de órganos en forma de una o más gotas de solución o una suspensión que contiene la composición o conjugados; mediante inyección; en forma de un recubrimiento sobre un material sólido que se implanta en, cerca de o sobre los tejidos, órganos u sistemas de órganos; en forma de una malla o parche; al unir el conjugado o composición a, o encerrarlo dentro de, una o más nanopartículas que después se suministran a, cerca de o sobre los tejidos, órganos u sistemas de órganos. Otros métodos adecuados para aplicar los conjugados o composiciones a, sobre, cerca o dentro de los tejidos, órganos o sistemas orgánicos para lograr los métodos terapéuticos y de diagnóstico de acuerdo con la invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica.

En otras modalidades, la administración de los conjugados o composiciones a o en el ser humano o animal veterinario puede lograrse por cualquier medio bien conocido, que incluye en forma de una solución, un ungüento, un bálsamo, un parche, una crema, una solución tópica y una oblea de liberación de fármacos. Por ejemplo, los conjugados o composiciones pueden aplicarse o introducirse en el ser humano o animal veterinario en forma de una o más gotas de solución o una suspensión que contiene la composición o conjugados; mediante inyección; en forma de un recubrimiento sobre un material sólido que se implanta en el ser humano o animal veterinario; en forma de una malla o parche; al unir el conjugado o composición a, o encerrarlo dentro de, una o más nanopartículas que después se suministran al ser humano o animal veterinario. Otros métodos adecuados para aplicar los conjugados o composiciones a o en el ser humano o animal veterinario para lograr los métodos terapéuticos y de diagnóstico de acuerdo con la invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica.

Las enfermedades o trastornos nerviosos que pueden tratarse, mejorar o diagnosticarse mediante el uso de las composiciones en los métodos de acuerdo con la invención como se reivindicó incluyen, pero no se limitan a, lesiones a uno o más nervios o procesos nerviosos (que incluyen axones, dendritas y neuronas o cuerpos neuronales, ganglios, haces nerviosos y similares), o determinadas enfermedades y trastornos neurooculares que incluyen los que involucran o afectan a los nervios de la retina y el nervio óptico, que incluyen, entre otros, la degeneración macular (húmeda y/o seca, que puede o no estar relacionada con la edad), retinopatías (que pueden incluir retinopatía diabética, retinopatía isquémica, una retinopatía proliferativa y otras retinopatías y enfermedades o trastornos retinianos genéticos conocidos en la técnica), . En determinadas de tales modalidades, las composiciones y métodos de la invención como se reivindicaron pueden usarse para inducir la reparación o el crecimiento de nervios (por

ejemplo, a través de la neuroregeneración), particularmente en los nervios craneales que incluyen, entre otros, el nervio óptico y los nervios retinianos. En otras modalidades, las composiciones en los métodos de acuerdo con la invención como se reivindicó pueden usarse para proteger determinados nervios de la degeneración, o de la degeneración adicional o continuada (es decir, proporcionar una función neuroprotectora), que puede, por ejemplo, ser útil para prevenir, reducir o ralentizar la progresión de la degeneración del nervio óptico y/o los nervios de la retina para la prevención y/o tratamiento de las retinopatías de origen genético (por ejemplo, retinopatía diabética). Otros usos beneficiosos de las composiciones en los métodos de acuerdo con la invención como se reivindicó en el tratamiento, mejora o diagnóstico de enfermedades o trastornos del sistema nervioso y nervioso familiarizarán al experto en la técnica ordinaria en base a la guía proporcionada en la presente descripción en vista de la información fácilmente disponible en las técnicas pertinentes.

De acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó, las composiciones para su uso en métodos de tratamiento de una enfermedad o trastorno nervioso en un ser humano o animal veterinario que padece o está predispuesto a una enfermedad o trastorno nervioso comprenden administrar las composiciones descritas en la presente descripción, particularmente los CMP y conjugados CMP-TC y composiciones que comprenden tales CMP y/o conjugados, en o cerca de uno o más tejidos, órganos o sistemas de órganos de un ser humano o animal veterinario, en un sitio próximo a la ubicación de una lesión nerviosa asociada con o que causa la enfermedad o trastorno nervioso. Sin desear limitarse a la teoría, los inventores suponen que en áreas de determinadas enfermedades y trastornos nerviosos hay suficiente interrupción del colágeno tipo I (quizás entre otros componentes de la matriz extracelular local) de manera que el CMP se dirigirá al sitio de la enfermedad o trastorno nervioso específicamente e intercalará en la estructura del colágeno, de esta manera se induce la neuroregeneración y/o neuroprotección directamente a través de la reformación de una matriz de colágeno funcional, o en los casos en los que el CMP transporta un compuesto terapéutico que suministra el compuesto terapéutico al sitio donde debe actuar para tratar, prevenir o mejorar la enfermedad o trastorno nervioso. De acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó, los conjugados o composiciones se aplican adecuadamente a, cerca o dentro del tejido, órgano u órgano sistema en una dosis suficiente para tratar o mejorar la enfermedad o trastorno nervioso, y la progresión, remisión o estasis de la enfermedad o trastorno nervioso en el ser humano o animal veterinario se monitorea después en el tiempo para mejorar el estado de la enfermedad o trastorno. Las dosis adecuadas para tales usos son concentraciones de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, aproximadamente 15 ng/ml a aproximadamente 400 ng/ml, aproximadamente 20 ng/ml a aproximadamente 300 ng/ml, aproximadamente 25 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 30 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 35 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 40 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 50 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 75 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml y aproximadamente 100 ng/ml a aproximadamente 200 ng/ml. En determinadas de tales modalidades, los conjugados o composiciones se aplican adecuadamente al ojo en dosis de aproximadamente 25 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, por ejemplo, aproximadamente 25 ng/ml, aproximadamente 30 ng/ml, aproximadamente 35 ng/ml, aproximadamente 40 ng/ml, aproximadamente 45 ng/ml, aproximadamente 50 ng/ml, aproximadamente 75 ng/ml, aproximadamente 100 ng/ml, aproximadamente 125 ng/ml, aproximadamente 150 ng/ml, aproximadamente 175 ng/ml, aproximadamente 200 ng/ml, aproximadamente 225 ng/ml, aproximadamente 250 ng/ml, aproximadamente 300 ng/ml, aproximadamente 350 ng/ml, aproximadamente 400 ng/ml, aproximadamente 450 ng/ml o aproximadamente 500 ng/ml. Las concentraciones y cantidades adicionales de los conjugados o composiciones de la invención como se reivindicó que se usan adecuadamente en tales métodos pueden determinarse fácilmente por un experto, en base a la información contenida en la presente descripción y que está disponible en la técnica, sin la necesidad de recurrir a experimentación indebida. Si es necesario, el conjugado o la composición de la invención como se reivindicó se administra periódicamente en, cerca o sobre uno o más tejidos, órganos o sistemas orgánicos de acuerdo con los programas y protocolos de dosificación y tratamiento descritos en la presente descripción y que serán familiares para el experto en la técnica, hasta que la enfermedad o trastorno nervioso se cure o mejore. En tales modalidades, los conjugados o composiciones de la invención como se reivindicó se administran adecuadamente a, cerca de, sobre o dentro de los tejidos, órganos o sistemas orgánicos por vía parenteral o tópica. La administración parenteral se logra por cualquier vía de administración conocida en la técnica de una terapia a los tejidos, órgano u órganos del sistema, por ejemplo, a través de una vía seleccionada del grupo que consiste en inyección subcutánea, inyección intradérmica, inyección intramuscular, inyección intracraneal, inyección intraespinal o inyección en cualquier tejido, órgano u órgano del sistema donde se manifiesta una enfermedad o trastorno nervioso; infusión intravenosa; infusión intraarterial; aplicación endoscópica; difusión transdérmica; implantación de una oblea de liberación de fármaco, película, gel o masilla; sublingualmente; por vía oral; o por vía rectal. En determinados de tales métodos, la composición se administra adecuadamente por vía parenteral al ser humano o animal veterinario en forma de una solución o pasta inyectada, una píldora, una cápsula, una solución, una suspensión o un polvo que se inhala o ingiere por el ser humano o animal veterinario, o en forma de una malla, película, oblea, gel, esfera, nanopartícula, pasta, masilla o parche que se implanta cerca, sobre o en el tejido, órgano o sistema de órganos en o próximo al sitio de la enfermedad o trastorno del sistema nervioso. En determinadas de tales modalidades, uno o más de los compuestos, composiciones o conjugados de la invención como se reivindicó pueden recubrirse sobre o en una malla o material de "manga" de manera que la malla o el material de manga se impregne con uno o más de los compuestos, composiciones o composiciones de la invención como se reivindicó, y la malla o la manga se aplique después a un nervio, proceso nervioso o haz de nervios lesionado (por ejemplo, transección) o dañado.

En otras modalidades, la administración de los conjugados o composiciones a, cerca o dentro de los tejidos, órganos o sistemas orgánicos puede lograrse por cualquier medio bien conocido, que incluye en forma de una solución, un ungüento, un bálsamo, un parche, una película, un gel, una pasta, esferas, nanopartículas, masilla, una crema, una solución tópica y una oblea de liberación de fármacos. Por ejemplo, los conjugados o composiciones pueden aplicarse a o cerca de, o introducirse en, los tejidos, órganos u sistemas de órganos en forma de una o más gotas de solución o una suspensión que contiene la composición o conjugados (por ejemplo, para su uso en la parte posterior del ojo, en forma de un colirio transoculador tópico); mediante inyección; en forma de un recubrimiento sobre un material sólido que se implanta en, cerca o sobre los tejidos, órganos u sistemas de órganos; en forma de una malla o parche; al unir el conjugado o composición a, o encerrarlo dentro de, una o más nanopartículas que luego se suministran a, cerca o sobre los tejidos, órganos u sistemas de órganos. Otros métodos adecuados para aplicar los conjugados o composiciones a, sobre, cerca o dentro de los tejidos, órganos o sistemas orgánicos para lograr los métodos terapéuticos y de diagnóstico de la invención como se reivindicó serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica.

En modalidades relacionadas, la invención como se reivindicó proporciona dispositivos, particularmente dispositivos médicos, adecuados para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección médica en un ser humano o animal veterinario que padece o está predispuesto a dicha enfermedad, trastorno o afección médica. Tales dispositivos adecuadamente comprenderán al menos una de las composiciones de la presente invención como se reivindicó, en forma de un recubrimiento en el dispositivo o una composición que se incrusta dentro del dispositivo de manera que se libere o eluye del dispositivo una vez que se implante dentro del cuerpo del ser humano o animal veterinario. Tales dispositivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, articulaciones artificiales, endoprótesis vasculares, catéteres, suturas, prótesis (por ejemplo, extremidades artificiales, estructuras corporales, órganos, etc.), mallas absorbibles o no absorbibles, parches absorbibles o no absorbibles, obleas liberadoras de fármacos, bombas de infusión internas, y similares.

Los dispositivos proporcionados por este aspecto de la invención como se reivindicó son útiles para tratar, mejorar o diagnosticar enfermedades, trastornos y afecciones médicas en humanos o animales veterinarios que padecen o están predispuestos a tales enfermedades, trastornos o afecciones médicas del segmento posterior. En los métodos de acuerdo con este aspecto, uno o más dispositivos médicos de la invención como se reivindicó se implantan en el ser humano o animal veterinario, y la afección médica del ser humano o animal veterinario se monitorea hasta que la enfermedad, trastorno o afección médica se cura o mejora en el ser humano o animal veterinario. Las enfermedades, trastornos y afecciones médicas adecuadas que pueden curarse, tratarse o mejorar mediante el uso de los dispositivos y métodos incluyen el sistema nervioso (particularmente los del ojo (tales como trastornos del segmento posterior del ojo tales como los que involucran la retina, epitelio retiniano (particularmente el epitelio del pigmento retiniano), vasos sanguíneos retinianos, nervios ópticos, que incluyen, entre otros, la degeneración macular (húmeda, seca y relacionada con la edad), retinitis pigmentosa, desgarros y desprendimiento de la retina, retinopatía (por ejemplo, retinopatía diabética), oclusión arterial o venosa retiniana (por ejemplo, BRAO (oclusión de la arteria retiniana ramificada), CRAO (oclusión de la arteria retiniana central), BRVO (oclusión de la vena retiniana ramificada) y CRVO (oclusión de la vena retiniana central), neuritis óptica, neuropatía óptica (que incluye, por ejemplo, AION (neuropatía óptica isquémica anterior), neuropatía óptica traumática y atrofia óptica (por ejemplo, atrofia óptica glaucomatosa)), y otras neuropatías que afectan el ojo o el área alrededor del ojo, los métodos adecuados para implantar uno o más de los dispositivos proporcionados por este aspecto de la invención como se reivindicó en un animal humano o veterinario, para lograr el tratamiento, prevención, mejora o diagnóstico de una enfermedad, trastorno o afección médica o física en el animal humano o veterinario serán familiares para el experto en la técnica médica y quirúrgica.

Las concentraciones de los CMP, o de los conjugados CMP-TC, útiles para tratar, mejorar o diagnosticar una o más enfermedades o trastornos de acuerdo con los métodos y de acuerdo con la presente invención como se reivindica serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica ordinaria en las artes farmacéuticas y médicas. Para los CMP no conjugados, las cantidades o concentraciones adecuadas de CMP a administrar a un sujeto, particularmente un ser humano o un animal veterinario, las cantidades o concentraciones adecuadas de CMP a usar incluyen las descritas anteriormente en la presente descripción. En base a la guía proporcionada en la presente descripción, un experto en la técnica de las técnicas médica, farmacéutica y/o farmacológica puede determinar la cantidad apropiada de los conjugados y composiciones de la invención como se reivindicó para usar por kilogramo (kg) de masa corporal del ser humano o animal veterinario. Para los conjugados CMP-TC, las mismas cantidades o concentraciones de CMP descritas en la presente descripción, ya sea en concentración (por ejemplo, ng/ml o µg/ml) o en cantidad (por ejemplo, mg por kg de masa corporal), se administran adecuadamente al sujeto, y la cantidad de ingrediente farmacéutico activo o biológico se calcula durante el proceso de conjugación para suministrar cantidades terapéuticamente efectivas del ingrediente farmacéutico activo o biológico deseado, en dependencia de la enfermedad o trastorno que se va a tratar, prevenir, mejorar o diagnosticar en el ser humano o animal veterinario. Las cantidades o concentraciones adecuadas de ingredientes farmacéuticos activos o productos biológicos a usar de acuerdo con este aspecto de la invención como se reivindicó serán familiares para el experto en la técnica, y pueden determinarse fácilmente a partir de la información contenida en la presente descripción y otra información que está disponible en las técnicas pertinentes.

Habiendo descrito ahora la presente invención como se reivindicó en detalle, la misma se entenderá más claramente mediante referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen con la presente para propósitos de ilustración solamente y no pretenden ser limitantes de la invención como se reivindicó.

5 EJEMPLOS

Ejemplo 1: Efecto de los CMP y conjugados CMP-TC sobre la cicatrización *in vivo* del epitelio corneal de ratón

Para examinar los posibles efectos terapéuticos de los CMP y los conjugados CMP-TC, se diseñaron estudios para probar determinados CMP y conjugados CMP-TC en un contexto *in vivo* - la cicatrización del epitelio corneal en ojos de ratón heridos. Los ratones hembras (C57BL/6 de 8 semanas; se probaron siete ratones por muestra) se anestesiaron y las córneas de los ojos de los ratones se lesionaron con una herida epitelial superficial de 1,5 mm de profundidad suficiente para exponer el estroma anterior y de esta manera dañar y exponer la matriz de colágeno. Las heridas se crearon mediante trepanación, seguidas de una técnica de raspado de Algerbrush (ver Carlson, E., y otros, "Impact of Hyaluronic Acid-Containing Artificial Tear Products on Reepithelialization in an *In Vivo* Corneal Wound Model," J. Ocular Pharmacol. Ther., publicado en línea el 2 de febrero de 2018, consultado en <https://doi.org/10.1089/jop.2017.0080>). Después de la lesión, las córneas se trataron con 25 nM (aproximadamente 3 mg/kg) de CMP o conjugados de CMP-TC, en PBS acuoso. Los ratones de control negativo se trataron solo con vehículo (PBS), y los ratones de control positivo se trataron con 100 ng/ml de factor de crecimiento epidérmico (EGF). Se examinó el tamaño de la herida en varios puntos de tiempo durante 48 horas mediante tinción de fluoresceína (ver Carlson y otros, id.), y se documentó a través de fotomicrografía fluorescente, y se cuantificó mediante el uso del software Image J (ver Rush, J.S. y otros, Investig. Ophthalmol. Visual Sci. 57(14):5864-5871 (2016); Rush, J.S. y otros, Investig. Ophthalmol. Visual Sci. 55(8):4691-4699 (2014)). Los resultados se muestran en la Figura 1.

La Figura 1 muestra que los CMP y los conjugados CMP-TC aceleraron significativamente la reepitelización y la cicatrización del estroma subepitelial en la córnea de ojos de ratón, frente a tanto el EGF como el vehículo. Las Figuras 1a-1d muestran el tamaño de la herida (visualizada como el círculo de fluorescencia de la fluoresceína en cada fotomicrografía) inmediatamente después de la inducción de la herida, mientras que las Figuras 1e-1h muestran el tamaño de la herida 16 horas después de la herida y después del tratamiento con varias sustancias de prueba. Figuras 1a, 1e: PBS (control negativo); Figuras 1b, 1f: EGF (control positivo); Figuras 1c, 1g: "Compuesto 3", un CMP (Pro-Pro-Gly)₇ (un péptido mimético de colágeno que comprende siete repeticiones de una secuencia de tres aminoácidos de prolina-prolina-glicina ((Pro-Pro-Gly)₇), es decir, una secuencia de aminoácidos de: Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Pro-Gly (SEQ ID NO:1)); Figuras 1d, 1h: "Compuesto 10", un conjugado de CMP (Hyp-Pro-Gly)₇ - sustancia P (un conjugado peptídico en el que el péptido de cicatrización de heridas conocido como sustancia P y que tiene la secuencia de aminoácidos de Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met (SEQ ID NO:389) se une a un CMP que comprende siete repeticiones de una secuencia de tres aminoácidos (Hyp-Pro-Gly)₇: Hyp-Pro-Gly-Hyp-Pro-Gly-Hyp-Pro-Gly-Hyp-Pro-Gly-Hyp-Pro-Gly-Hyp-Pro-Gly-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met (SEQ ID NO:391)). Los resultados demuestran que ambos CMP (Compuestos 3 y 10) demostraron una aceleración significativa de la cicatrización de heridas en la córnea y el estroma corneal de ratón (indicado por una reducción en el diámetro y disminución en la intensidad de la fluorescencia) dentro de las 16 horas posteriores al tratamiento, en comparación con los controles de PBS y EGF que mostraron un menor nivel de cicatrización.

Para examinar la cicatrización de heridas corneales a nivel histológico, los ratones se sacrificaron 24 horas después de la herida y el tratamiento con PBS o Compuesto 3 como anteriormente, se extrajeron los ojos y se fijaron en formalina y se seccionaron en secciones delgadas, y las secciones se tiñeron con H-E y se examinaron mediante microscopía óptica. Los resultados de estos experimentos confirmaron que dentro de las 24 horas posteriores a la herida y el tratamiento con el Compuesto 3 (Figura 1j), el epitelio corneal demostró una cicatrización sustancial (formación de una capa epitelial intacta y edema y desorganización del estroma subepitelial significativamente menores) en comparación con las secciones epiteliales corneales tomadas de ojos de ratones tratados solo con PBS (Figura 1i). Estos resultados se confirmaron a mayor aumento (Figura 2), donde las secciones corneales de ojos de ratón tratados con PBS (Figura 2a) mostraron una interrupción sustancial de la matriz subepitelial y carecían de una membrana basal (flecha). Por el contrario, las secciones corneales de ojos de ratón tratados con un CMP Compuesto 3 (Figura 2b) mostraron la cicatrización de la córnea como lo indica una capa epitelial intacta completa con una membrana basal reformada (flecha), así como también un edema significativamente reducido y desorganización de la matriz subepitelial. Para determinar el grado de cicatrización, las secciones preparadas como en la Figura 2 se examinaron microscópicamente y se midió la longitud promedio de la adhesión de la capa epitelial a la membrana basal y al estroma subepitelial. Los resultados de estos análisis se muestran en la Figura 3, que mostró que dentro de las 24 horas posteriores al tratamiento con 250 nM del Compuesto 3, las heridas corneales de CMP se habían curado casi por completo (comparar con secciones oculares no expuestas, es decir, no heridas). Por el contrario, las concentraciones más bajas del Compuesto 3 no fueron tan efectivas para inducir la cicatrización, pero aun así se desempeñaron mejor desde el punto de vista de la cicatrización que el Compuesto 10 que dio resultados similares a los que se vieron con EGF y PBS.

En conjunto, los resultados de las Figuras 1-3 respaldan el uso de los CMP y conjugados de CMP-TC de la presente invención como se reivindicó para promover la cicatrización de heridas corneales y la reparación del colágeno estromal

en el ojo de ratón herido, un modelo de una variedad de afecciones oculares humanas y de animales veterinarios, que incluyen el ojo seco y la laceración o ulceración corneal de una variedad de etiologías.

Ejemplo 2: Efecto de los CMP sobre la proliferación y migración de células epiteliales pigmentarias retinianas

Para examinar los posibles efectos terapéuticos de los CMP y los conjugados CMP-TC en las indicaciones de la parte posterior del ojo, se diseñaron estudios para probar determinados CMP y conjugados CMP-TC en un contexto *in vitro*: la proliferación y migración de células epiteliales pigmentarias retinianas (RPE). Las células ARPE19, una línea celular de RPE humana que expresa marcadores de células RPE diferenciadas (ver Dunn, K.C., y otros, *Exp. Eye Res.* 62(2):155-170 (1996)), se obtuvieron de ATCC (Manassas, VA). Las células se sembraron (100 000 células/ml a 2 ml por pocillo) en placas de cultivo de tejido recubiertas con colágeno de 100 mm (recubiertas con 100 µg/ml de colágeno tipo I (Advanced BioMatrix) durante 2 horas a 37 °C) que se habían tratado previamente con collagenasa (Worthington Biochemical Corporation; 100 U/ml en tampón TMC durante 1,5 horas a 37 °C) y después se tratan ya sea con 100 µM del Compuesto 3 (un (Pro-Pro-Gly)⁷ CMP; SEQ ID NO: 1) en tampón TNC, o con vehículo como control negativo. Las placas se incubaron a 37 °C durante la noche y después se evaluaron mediante microscopía de contraste de fase para densidad, morfología y formación de redes. Los resultados representativos se muestran en la Figura 4.

La Figura 4 muestra que los CMP y los conjugados CMP-TC aceleraron significativamente la proliferación y formación de redes de células RPE, frente al vehículo. La Figura 4a muestra células RPE sembradas en placas recubiertas con colágeno que se habían tratado con collagenasa y después solo con vehículo (control negativo), mientras que la Figura 4b muestra los resultados con células sembradas en placas que se habían tratado con un CMP (Compuesto 3). Los resultados demuestran que el Compuesto 3 indujo una aceleración significativa de la proliferación (es decir, mayor densidad celular en el monocapa), y la dispersión, migración y formación de redes entre células RPE adyacentes (Figura 4b), frente a células en placas tratadas con vehículo en las que las células eran menos numerosas, menos dispersas en la placa, y mostraron una formación de redes más baja entre células adyacentes (Figura 4a). Estos resultados sugieren que los CMP de la invención como se reivindicó promueven la proliferación, migración y formación de redes en células RPE *in vitro*.

Para examinar el impacto de los CMP en la matriz de colágeno subyacente en los experimentos mostrados en la Figura 4, las placas recubiertas con colágeno tratadas con collagenasa (preparadas como se describió anteriormente) se examinaron mediante microscopía de contraste de interferencia diferencial (DIC). Como se muestra en la Figura 5, los fotomicrografías DIC de gran aumento demostraron que la matriz de colágeno subyacente en las placas tratadas con vehículo (Figura 5a) formó una matriz de fibras de colágeno orientadas aleatoriamente (flechas), mientras que la matriz de colágeno en las placas tratadas con el Compuesto 3 (Figura 5b) formó fibras que mostraron una orientación paralela (flechas) similar a la que se observa en la matriz estromal en tejidos endógenos en ausencia de lesión. Estos resultados con el Compuesto 3 también son análogos a los informados en la literatura en otros sistemas *in vitro* (Kivanany, PB y otros, *J. Funct. Biomater.* 9(4):54 (2018); Hapach, LA y otros, *Phys. Biol.* 12(6): 061002 (2015); Lanfer, B. y otros, *Biomaterials* 29:3888-3895 (2008); Saeidi, N y otros, *Biomaterials* 30:6581-6592 (2009)).

En base a los resultados mostrados en la Figura 5, y los informes análogos en la literatura, el grado de orientación paralela (es decir, unidireccional) del colágeno observado en placas tratadas con un CMP (Compuesto 3) se cuantificó mediante el uso de análisis digital de las micrografías neurotradas en la Figura 5 en base a un algoritmo recientemente informado en la literatura (Cooper, ML y otros, *Acta Neuropathol. Commun.* 6(1):38 (2018)). Los resultados de este análisis (Figura 6) mostraron que el tratamiento de las placas recubiertas con colágeno tratadas con collagenasa con el Compuesto 3 mejoró la alineación paralela del colágeno en aproximadamente tres veces en comparación con lo que se observó en las placas tratadas con vehículo. Junto con los resultados mostrados en la Figura 5, estos resultados demuestran que un CMP (es decir, Compuesto 3) fue capaz de inducir rápidamente la formación de fibras de colágeno organizadas en la matriz *in vitro*, análoga a lo que se observa en tejidos no lesionados y curados *in vivo*.

Para examinar el potencial de los CMP para promover la proliferación de células RPE, las células ARPE19 cultivadas en placas recubiertas de colágeno tratadas con collagenasa, como se describió anteriormente, se examinaron mediante microscopía de contraste de fase para determinar la densidad en las superficies de la placa. Las placas se dividieron en cuadrículas de área unitaria establecida (15 µm x 15 µm), y se determinó el número de núcleos celulares en cada cuadrícula para las placas tratadas con vehículo y tratadas con CMP (Compuesto 3). Como se muestra en la Figura 7, las células RPE cultivadas en placas tratadas con CMP (Figura 7b) estaban presentes en un número significativamente mayor por unidad de área de placa que aquellas células en placas tratadas con vehículo (Figura 7a). Estos resultados indican que el Compuesto 3 promueve la proliferación *in vitro* de células RPE.

También se examinó la capacidad de los CMP para inducir la migración y la adhesión de las células RPE en un ensayo *in vitro*, como un modelo de migración y adhesión de células RPE que se produce en la cicatrización en determinadas enfermedades de la parte posterior del ojo (por ejemplo, degeneración macular, retinitis pigmentosa) y lesiones retinianas. Las membranas de inserto Transwell (Costar; tamaño de los poros de 8 µm) se recubrieron por inmersión con 500 µl de sustrato (100 µg/ml de colágeno humano tipo I o 100 µg/ml de Compuesto 3) o se sumergieron en vehículo (agua) a temperatura ambiente durante la noche. Después de 24 horas, los insertos de membranas se lavaron tres veces con PBS y se dejaron secar a 37 °C. Se resuspendieron aproximadamente 105 células ARPE19 para cada condición en 100 µl de medio sin suero y se añadieron al lado apical de cada membrana de inserción. Los insertos se

colocaron después en una placa de 24 pocillos que contenía 0,5 ml de medio completo (más FBS al 10 %), que atrae a las células y promueve la migración, y las placas se incubaron a 37 °C durante 4 horas. Después se realizó una evaluación de qué tan bien el recubrimiento de membrana permitió la migración de las células y promovió su adhesión al lado basal de la membrana. Después de la incubación, las células no migradas en la parte superior del inserto se eliminaron cuidadosamente con un hisopo de algodón. Las células que se adhieren al lado basal de la membrana después de la migración se fijaron con paraformaldehído al 4 % durante 5 minutos a temperatura ambiente, se tiñeron con solución de violeta cristal al 0,1 % durante 5 minutos y después se lavaron suavemente con agua. El número de células que migran y se adhieren al lado basal de las membranas recubiertas bajo las diversas condiciones indicadas anteriormente se determinó luego mediante el conteo microscópico de células dentro de campos de aumento de 10x y 20x, seis campos por inserto de membrana. Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Los resultados cualitativos (Figura 8) demostraron que en las membranas tratadas con un CMP, el Compuesto 3, más células RPE migraron a través de la membrana y se adhirieron al lado basal de la membrana (Figura 8c), tanto en comparación con el vehículo (Figura 8a) como con el colágeno nativo (Figura 8b). Estos resultados cualitativos también se respaldaron cuantitativamente (Figura 9), donde se encontró que el Compuesto 3 aumenta significativamente la migración y la adhesión de las células RPE frente al colágeno nativo y al vehículo.

En un experimento relacionado para examinar la migración celular, solo la superficie apical de la membrana transwell se recubrió (con 50 µl de solución) con vehículo, colágeno humano nativo tipo I (100 µg/ml) o Compuesto 3 (200 µM). Otras condiciones fueron las mismas que las descritas anteriormente. Los resultados de este experimento (Figura 10) demostraron que el Compuesto 3 aumentó significativamente la migración de células RPE a través de la membrana, en comparación con el colágeno nativo tipo I. El vehículo y el Compuesto 3 fueron igualmente efectivos para permitir el paso, lo que indica que el Compuesto 3 proporciona un sustrato para la migración de células RPE sin proporcionar también la barrera a la migración que proporciona el colágeno natural. Estos resultados demuestran que los CMP de la invención como se reivindicó inducen la migración y la adhesión de células RPE *in vitro*, lo que proporciona un modelo útil de la migración y la adhesión de células RPE *in vivo* en áreas de daño al colágeno que acompaña a la interrupción epitelial retiniana.

En conjunto, estos resultados respaldan el uso de los CMP y conjugados CMP-TC de la presente invención como se reivindicó para promover la cicatrización epitelial retiniana y la reparación del colágeno estromal en líneas celulares epiteliales retinianas de mamíferos, un modelo de una variedad de afecciones de la parte posterior del ojo humano y de animales veterinarios, que incluyen la degeneración macular (seca, húmeda y relacionada con la edad), la retinitis pigmentosa y otros trastornos, enfermedades, lesiones y afecciones oculares que involucran el epitelio retiniano.

Ejemplo 3: Efecto de los CMP sobre la adhesión de las células epiteliales del pigmento de la retina a las matrices de colágeno interrumpidas

Los inventores desearon examinar más a fondo los posibles efectos terapéuticos de los CMP y los conjugados CMP-TC en indicaciones en la parte posterior del ojo, particularmente en indicaciones en las que la matriz de colágeno puede verse interrumpida. Por lo tanto, los estudios se diseñaron para probar determinados CMP y conjugados CMP-TC en un entorno *in vitro*: la adhesión de las células epiteliales del pigmento de la retina (RPE) a las placas de cultivo de tejidos *in vitro* que se recubrieron con colágeno y que se trataron con una enzima que interrumpe el colágeno y después con un CMP, como modelo de una matriz interrumpida y después potencialmente reparada *in vivo*.

Para evaluar la capacidad de la enzima seleccionada (metaloproteinasa de matriz-1 (MMP-1)) para digerir el colágeno que se usa en los ensayos *in vitro*, se activó 60 nM de MMP-1 con 2 nM de APMA durante 30 minutos a 37 °C en tampón TNC. Después se añadió atelo-colágeno tipo 1 humano (3,375 µg, 0,2 µg/µl) a la reacción y se digirió durante 6 h adicionales a 37 °C. Después, la reacción se sometió a SDS-PAGE en condiciones reductoras. Los resultados se muestran en la Figura 11. Como se ve en la Figura 11A, los componentes α1 y α2 del colágeno de tipo I se resolvieron en el gel, y el tratamiento del colágeno con MMP-1 (para formar "colágeno escindido") demostró una digestión significativa de estos componentes en fragmentos de menor peso molecular (TC^A y TC^B). Como se muestra en la Figura 11B, la cuantificación de la digestión, normalizada a las bandas α1 y α2 mostradas en las muestras de colágeno no digerido, demostró una reducción de aproximadamente 7,4 veces (más del 80 %) en la longitud completa de estas cadenas cuando el colágeno se trató con MMP-1. Estos resultados validan la capacidad de MMP-1 para escindir colágeno para su uso en los ensayos *in vitro* de este Ejemplo. Estos resultados también están en línea con informes anteriores que indican que la MMP-1 desenrolla el colágeno tipo I de triple hélice antes de la hidrólisis de los enlaces peptídicos por la enzima (ver Chung L. y otros, EMBO J. 23(15):3020-3030 (2004)).

Para los ensayos celulares, las células ARPE19 (ver Ejemplo 2) se sembraron en placas de cultivo celular que se habían recubierto con colágeno intacto o con colágeno digerido por MMP-1. La MMP-1 se activó mediante el uso de APMA como se describió anteriormente. Para probar el "colágeno cortado", el atelocolágeno tipo I humano se digirió con MMP-1 activada como se describió anteriormente, y las placas de cultivo de tejidos se recubrieron durante la noche con atelocolágeno tipo I humano intacto o con colágeno cortado. Las placas se trataron después con vehículo (PBS) o con uno de cuatro CMP diferentes: CMP A (un péptido mimético de colágeno que comprende siete repeticiones de una secuencia de tres aminoácidos en la que Hyp, y preferentemente un residuo de 4S-hidroxiprolina, se ha sustituido por prolina₂ en SEQ ID NO:1, lo que produce una secuencia de siete repeticiones de 4S-hidroxiprolina-prolina-glicina ((Pro-Hyp-Gly)₇), es decir, una secuencia de aminoácidos de: Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-

Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly (SEQ ID NO:3)), CMP B (SEQ ID NO:6), CMP C (SEQ ID NO:391) o CMP D (un CMP que comprende la secuencia Pro-Flp-Gly-Pro-Flp-Gly-Pro-Cys-Gly-Pro-Flp-Gly-Pro-Flp-Gly-Pro-Flp-Gly-Pro-Flp-Gly (SEQ ID NO: 13)), cada uno a 100 μ M, 100 μ l por pocillo, y se incubaron a 37 °C durante cinco horas. Después, las placas se enjuagaron con medio de cultivo y las células ARPE-19 se sembraron uniformemente en placas que tenían una de tres condiciones de recubrimiento superficial: (1) colágeno intacto; (2) colágeno cortado; y (3) colágeno cortado + CMP. Las placas se incubaron después a 37 °C durante 19 horas y después se examinó la adhesión celular mediante microscopía de contraste de fase. Los resultados representativos se muestran en las Figuras 12-13.

La Figura 12 muestra que las células RPE se adhirieron con bastante facilidad a placas recubiertas con colágeno (Figura 12A), pero no muy bien a placas recubiertas con colágeno cortado (Figura 12B). Sin embargo, determinados CMP aparentemente fueron capaces de reparar la matriz de colágeno en la placa en cierta medida de manera que las células RPE demostraron una adhesión aumentada, a un nivel más alto que el observado en las placas de colágeno cortadas. Por ejemplo, en los fotomicrografías, las células sembradas en placas recubiertas con colágeno cortado que se habían tratado con CMP B (SEQ ID NO:6) mostraron una mayor adherencia frente a placas de colágeno cortado (Figura 12D); esta propensión a aumentar la adherencia fue menos pronunciada en placas recubiertas con colágeno cortado y tratadas con CMP A (SEQ ID NO:3), sin embargo, como se ve en la Figura 12C. Los ensayos cuantitativos de la adhesión de células en placas de colágeno cortadas tratadas con cuatro CMP diferentes confirmaron estos resultados (Figura 13A, 13B), en que tanto el CMP B como el CMP D (SEQ ID NO: 13) demostraron una adhesión significativamente aumentada y, por lo tanto, presumiblemente una capacidad de reparación significativamente mejorada de la matriz de colágeno digerido en las placas, en comparación con el colágeno cortado y con el CMP A y el CMP C (SEQ ID NO:391). Estos resultados proporcionan una correlación basada en células con los resultados de microscopía DIC en el Ejemplo 2 que demostró el impacto del tratamiento con CMP en la reformación de una matriz de colágeno interrumpida *in vitro*, y sugieren que los CMP de la invención como se reivindicó pueden ser útiles para mejorar la reparación de una matriz de colágeno interrumpida para promover de esta manera la adhesión, proliferación, migración y formación de redes en células RPE *in vitro* y quizás células neuronales en general.

Ejemplo 4: Efecto de los CMP sobre el crecimiento de neuritas en células del ganglio de la raíz dorsal *In Vitro*

Los inventores desearon examinar más a fondo los posibles efectos terapéuticos de los CMP y los conjugados CMP-TC en indicaciones neuronales y del sistema nervioso, particularmente en indicaciones en las que la matriz de colágeno puede interrumpirse. Por lo tanto, se diseñaron estudios para probar determinados CMP y conjugados CMP-TC en otro contexto *in vitro*: la supervivencia y el crecimiento de las neuritas en las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (DRG) *in vitro*.

Para estos ensayos, las neuronas de DRG se aislaron de ratas embrionarias de 19 días y se colocaron en placas de cultivo de tejidos que se habían recubierto con colágeno intacto o con colágeno digerido por MMP-1 y después se trataron con vehículo (PBS) o con uno de cuatro CMP diferentes: CMP A (SEQ ID NO:3), CMP B (SEQ ID NO:6), CMP C (SEQ ID NO:391) o CMP D (SEQ ID NO: 13), cada uno a 100 μ M, 100 μ l por pocillo, y se incubaron a 37 °C durante cinco horas. Después, las placas se enjuagaron con medio de cultivo, y las células neuronales de DRG se sembraron uniformemente en placas que tenían una de tres condiciones de recubrimiento superficial: (1) colágeno intacto; (2) colágeno cortado; y (3) colágeno cortado + CMP. Las placas se incubaron después a 37 °C durante 48 horas y después se examinó la morfología y el crecimiento de las neuritas mediante microscopía de campo brillante invertido. Los resultados representativos se muestran en las Figuras 14-15.

La Figura 14 muestra que las neuronas de DRG demostraron un crecimiento de neuritas sustancial en todas las direcciones desde el cuerpo celular cuando se colocaron en placas recubiertas con colágeno (Figura 14A), pero redujeron el crecimiento de neuritas en placas recubiertas con colágeno cortado (Figura 14B). Sin embargo, los CMP de la invención como se reivindicó fueron aparentemente capaces de reparar la matriz de colágeno en la placa en cierta medida de manera que las neuronas de DRG demostraron un crecimiento de las neuritas sustancial por encima de lo que se vio en las placas de colágeno cortadas, con determinados CMP que indujeron el crecimiento de las neuritas a un grado similar o incluso mayor que el observado con colágeno intacto no digerido (Figuras 14C-14F). Cuando se cuantificó el área del campo dendrítico normalizada a la observada en las placas de colágeno cortado (Figura 15A), todos los CMP probados no difirieron significativamente ($p=0,15$) de lo que se observó en las placas de colágeno intacto. Además, como se muestra en la Figura 15B, la longitud de la neurita más larga observada (normalizada a colágeno cortado) en placas tratadas con CMP C (SEQ ID NO:391) y CMP D (SEQ ID NO: 13) incluso superó a la observada con colágeno intacto ($p < 0,002$). Estos resultados proporcionan una correlación primaria basada en células neuronales con los resultados de células RPE en los Ejemplos 2 y 3 que demostraron el impacto del tratamiento con CMP en la reformación de una matriz de colágeno interrumpida *in vitro*, e indican que determinados CMP de la invención como se reivindicó son útiles para mejorar la reparación de una matriz de colágeno interrumpida para promover de esta manera la proliferación, migración y formación de redes en células neuronales. En conjunto, estos resultados sugieren que los CMP de la presente invención como se reivindicó deberían resultar útiles para tratar, mejorar, prevenir y diagnosticar una variedad de enfermedades y trastornos que involucran células nerviosas y el sistema nervioso.

Ejemplo 5: Penetración de los CMP de la superficie ocular a la retina

Los inventores desearon examinar más a fondo los posibles efectos terapéuticos de los CMP y los conjugados CMP-TC en indicaciones en la parte posterior del ojo, particularmente en indicaciones en las que la matriz de colágeno puede verse interrumpida. En el tratamiento de determinadas de tales indicaciones, es conveniente poder aplicar la composición terapéutica en forma de gotas a la superficie ocular en lugar de someter al paciente al procedimiento más invasivo de inyección intravítrea; tal adición en forma de gotas de terapéuticos a los ojos es fácilmente lograda por los pacientes en sus hogares en lugar de en la consulta del médico como se requiere para la inyección intravítrea, lo que da como resultado una mejor comodidad del paciente y cumplimiento con el régimen terapéutico. Por lo tanto, se diseñaron estudios para probar la capacidad de determinados CMP para penetrar a través de la córnea hasta la retina en un contexto *in vivo*, ojos de ratón intactos.

Para evaluar la capacidad de un CMP para penetrar desde la superficie del ojo hasta la parte posterior del ojo, se preparó un CMP conjugado con un fluoróforo. En estos estudios, un CMP que tiene la secuencia de aminoácidos (Pro-Pro-Gly)₇ (SEQ ID NO:1) se conjugó en su extremo C terminal con Tide Fluor™ 2 (AAT Bioquest, Sunnyvale, CA) y obtenido de Bachem (Torrance, CA); este conjugado fluorescente se designa en la presente descripción como "TF2-CMP". Los ratones hembras (C57BL/6 de 8 semanas de edad) se anestesiaron y se administró TF2-CMP en ambos ojos de los ratones ya sea en forma de gotas administradas a la superficie de los ojos (bilateralmente, una vez al día durante tres días, 10 µl de una solución de 200 µM de TF2-CMP en PBS por administración) o a la parte posterior del ojo mediante inyección intravítrea como controles positivos (bilateralmente, una inyección solo el día 3, mediante el uso de agujas de vidrio estiradas para la inyección; 1,5 µl de una solución de 100 µM de TF2-CMP en PBS por inyección). Los ratones de control negativo se trataron solo con vehículo (PBS). El día 3, los ratones se sacrificaron y se examinó cualitativamente la cantidad de fluorescencia en varias porciones de la estructura ocular (indicativa de la cantidad de TF2-CMP) mediante fotomicrografía de fluorescencia confocal. Los resultados se muestran en la Figura 16.

Como se esperaba, la inyección intravítrea de TF2-CMP (Figuras 16A y 16B) demostró una unión altamente dirigida del CMP en y alrededor de las neuronas de células ganglionares en la capa de células ganglionares de la retina (Figura 16A), con numerosos vasos sanguíneos (flechas) y núcleos de células ganglionares (puntas de flecha) claramente visibles en contraste. Se observó que la fluorescencia se localizaba en la capa de células ganglionares, con muy poco de TF2-CMP localizado en la membrana limitante interna de la superficie vítrea (Figura 16B). Sorprendentemente, se observaron resultados similares en ojos de ratón en los que el TF2-CMP se había administrado en forma de gotas durante tres días a la superficie del ojo (Figuras 16C y 16D). En estos ojos, la fluorescencia también se dirigió alrededor de las neuronas de células ganglionares en la capa de células ganglionares de la retina (Figura 16C), con numerosos vasos sanguíneos (flechas) y núcleos de células ganglionares (puntas de flecha) nuevamente visibles en contraste. La cantidad de fluorescencia no específica observada en la superficie vítrea (Figura 16D) fue algo mayor que la observada para la inyección intravítrea (Figura 16B), lo que indica que parte del TF2-CMP se retuvo dentro de la membrana limitante interna de la superficie vítrea o estaba en el proceso de atravesar esa membrana hacia la capa de células ganglionares.

Estos resultados demuestran que los CMP y los conjugados de CMP son capaces de penetrar desde la superficie ocular a través de la córnea y a la retina, y más específicamente a través de la membrana limitante interna de la retina a la capa de células ganglionares. También se observa que los CMP están presentes en el espacio intersticial y/o en las superficies celulares, sin penetración a los núcleos de las células ganglionares ni a través de la membrana basal de los vasos sanguíneos retinianos. En conjunto, estos resultados indican que la administración gota a gota de los CMP y conjugados de CMP da resultados de penetración que son al menos altamente similares a la inyección intravítrea directa de las composiciones. Estos resultados respaldan la conclusión de que un enfoque más amigable con el paciente y compatible con el paciente para tratar enfermedades y trastornos oculares del segmento posterior, mediante el uso de la administración gota a gota de los CMP y conjugados de CMP en lugar de procedimientos más invasivos tales como la inyección intravítrea, puede ser alcanzable.

La presente invención como se reivindicó se ha descrito anteriormente con la ayuda de bloques de construcción funcionales que ilustran la implementación de funciones y relaciones especificadas de estos. Los límites de estos bloques de construcción funcionales se han definido arbitrariamente en la presente descripción para la conveniencia de la descripción. Los límites alternativos pueden definirse siempre que las funciones y relaciones especificadas de estos se realicen adecuadamente. Por ejemplo, la enumeración de un intervalo de valores (por ejemplo, un intervalo de dosis o concentraciones de dosificación) debe entenderse que incluye los valores al principio y al final de ese intervalo, así como también cada valor entre esos valores de principio y final. Para ilustrar este concepto, un intervalo de "aproximadamente 25 ng/ml a aproximadamente 250 ng/ml" debe interpretarse para incluir un valor que es "aproximadamente 25 ng/ml", "aproximadamente 250 ng/ml" y cada valor de concentración individual entre esos dos valores. El término "aproximadamente" cuando se usa junto con un valor numérico típicamente significa un valor que es el valor real mencionado $\pm 10\%$ de ese valor.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior, en donde dicha enfermedad ocular del segmento posterior involucra la retina, los vasos sanguíneos de la retina, los nervios de la retina o el nervio óptico en un ser humano o animal veterinario que necesita tratamiento de dicha enfermedad o trastorno, dicha composición comprende (a) al menos un péptido mimético de colágeno (CMP) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:6, y (b) uno o más portadores farmacéuticamente adecuados.
2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho al menos un CMP se une a al menos un compuesto terapéutico (TC) para formar un conjugado CMP-TC.
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicha enfermedad o trastorno ocular del segmento posterior se selecciona del grupo que consiste en degeneración macular, retinitis pigmentosa, desgarro de la retina, desprendimiento de la retina, retinopatía, oclusión arterial o venosa de la retina, neuritis óptica, neuropatía óptica y atrofia óptica.
4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde:
 - (a) dicha degeneración macular se selecciona de degeneración macular húmeda, degeneración macular seca y degeneración macular relacionada con la edad; y
 - (b) dicha retinopatía es retinopatía diabética.
5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho al menos un TC se selecciona del grupo que consiste en un fármaco antiinflamatorio esteroideo, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un anestésico tópico, una vitamina o un derivado o precursor de esta, una enzima terapéutica o un fragmento terapéutico de esta, un antibiótico, un anticuerpo monoclonal terapéutico o un fragmento terapéutico de este, una proteína de fusión terapéutica, un análogo de prostaglandina, un factor de crecimiento, un neuropéptido, un antagonista α -adrenérgico, un antagonista β -adrenérgico, un antagonista del receptor de la superficie celular, un inhibidor de la anhidrasa carbónica, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de este, preferentemente en donde:
 - (a) dicho fármaco antiinflamatorio esteroideo es prednisolona o una sal farmacéuticamente aceptable de esta;
 - (b) dicho fármaco antiinflamatorio no esteroideo se selecciona del grupo que consiste en ácido acetilsalicílico, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno, nepafenaco, bromfenac, diclofenaco, flurbiprofeno, cetoprofeno, ceterolaco y un derivado de indeno, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos;
 - (c) dicho anestésico tópico se selecciona del grupo que consiste en tetracaína, lidocaína, oxibuprocaina y proparacaína;
 - (d) dicha vitamina o derivado o precursor de esta se selecciona del grupo que consiste en retinol, tretinoína y retinal;
 - (e) dicha enzima terapéutica se selecciona del grupo que consiste en una colagenasa y una serina proteasa, o un fragmento terapéuticamente efectivo de estas;
 - (f) dicho antibiótico es un antibiótico aminoglucósido, un antibiótico de fluoroquinolona, un antibiótico de sulfonamida, un antibiótico de β -lactama o un antibiótico peptídico cíclico;
 - (g) dicho análogo de prostaglandina se selecciona del grupo que consiste en latanoprost, travoprost, tafluprost, unoprostona, tatanoprosteno bunod y bimatoprost, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos;
 - (h) dicho factor de crecimiento se selecciona del grupo que consiste en EGF, PDGF, TGF- β , IGF-1, VEGF y FGF- β ;
 - (i) dicho neuropéptido es Sustancia P (SEQ ID NO:389);
 - (j) dicho antagonista α -adrenérgico se selecciona del grupo que consiste en brimonidina, clonidina y apraclonidina, y sales, ésteres o derivados farmacéuticamente aceptables de estos;
 - (k) dicho antagonista β -adrenérgico se selecciona del grupo que consiste en timolol, propranolol, atenolol, levobunolol, carteolol, betaxolol y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos;
 - (l) dicho antagonista del receptor de la superficie celular es lifitegrast o etanercept; o
 - (m) dicho inhibidor de la anhidrasa carbónica se selecciona del grupo que consiste en dorzolamida, brinzolamida, metazolamida y acetazolamida, y sales, ésteres y derivados farmacéuticamente aceptables de estos.
6. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde:

- (a) dicho antibiótico aminoglucósido se selecciona del grupo que consiste en gentamicina, tobramicina, paromomicina, kanamicina, neomicina y amikacina, y una sal o éster farmacéuticamente aceptable de estos;
- 5 (b) dicho antibiótico de fluoroquinolona se selecciona del grupo que consiste en moxifloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, gemifloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina y ofloxacina, y una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable de estos;
- 10 (c) dicho antibiótico de sulfonamida se selecciona del grupo que consiste en sulfacetamida, sulfadiazina, sulfadimidina, sulfafurazol (sulfinoxazol), sulfisomidina (sulfaisodimidina), sulfadoxina, sulfametoxazol, sulfamoxol, sulfanitran, sulfadimetoxina, sulfametoxipiridazina, sulfametoxidiazina, sulfametopirazina y tereftal, y una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable de estos;
- (d) dicho antibiótico β -lactámico se selecciona del grupo que consiste en dicloxacilina, flucloxacilina, oxacilina, nafcilina, amoxicilina, una ampicilina, ticarcilina, piperacilina, ritipenem, un carbapenem, un cefem, un monobactam y un inhibidor de la β -lactamasa, penicilina o un derivado de estos; o
- 15 (e) dicho antibiótico peptídico cíclico es ciclosporina.
7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde
- (a) dicha penicilina o derivado de esta se selecciona del grupo que consiste en penicilina G, penicilina V, una bencilpenicilina y fenoximetilpenicilina;
- 20 (b) dicho carbapenem se selecciona del grupo que consiste en ertapenem, doripenem, imipenem y meropenem, y una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable de estos;
- 25 (c) dicho cefem se selecciona del grupo que consiste en cefazolina, cefalexina, cefadroxilo, cefapirina, cefaclor, cefotetan, cefamicina (cefoxitina), cefprozil, cefuroxima, cefuroxima axetil, ceftriaxona, ceftazidima, cefoperazona, cefdinir, cefcapeno, cefdaloxima, ceftizoxima, cefmenoxima, cefotaxima, cefpiramida, cefpodoxima, ceftibuten, cefditoren, cefepima, fosamil de ceftarolina, ceftolozana, ceftobiprol, ceftiofur, cequinoma y cefovecina, y una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable de estos;
- (d) dicho monobactam es aztreonam o una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable de este; o
- 30 (e) dicho inhibidor de β -lactamasa se selecciona del grupo que consiste en sulbactam, tazobactam, ácido clavulánico y avibactam, y una sal, éster o derivado farmacéuticamente aceptable de estos.
8. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde:
- 35 (a) dicho CMP se une covalentemente directamente a dicho al menos un TC; o
- (b) dicho CMP se une indirectamente a dicho al menos un TC mediante el uso de un medio de unión.
9. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dichos medios de unión comprenden al menos una cadena polimérica que tiene un primer extremo y un segundo extremo.
- 40 10. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde:
- (a) dicho primer extremo de dicha cadena polimérica se une a un residuo de lisina en dicho CMP y dicho segundo extremo de dicha cadena polimérica se une a un grupo amino en al menos un residuo de aminoácido en dicho TC;
- 45 (b) dicho primer extremo de dicha cadena polimérica se une a un residuo de cisteína en dicho CMP y dicho segundo extremo de dicha cadena polimérica se une a un grupo amino en al menos un residuo de aminoácido en dicho TC; o
- 50 (c) dicho primer extremo de dicha cadena polimérica se une a un residuo de metionina en dicho CMP y dicho segundo extremo de dicha cadena polimérica se une a un grupo amino en al menos un residuo de aminoácido en dicho TC.
11. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde dicho residuo de aminoácido en dicho TC es un residuo de lisina.
- 55 12. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha cadena polimérica es una cadena de polietilenglicol lineal que comprende al menos cuatro monómeros de etilenglicol, o un resto de polietilenglicol en forma de estrella.
- 60 13. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde:
- (a) dicha cadena polimérica lineal comprende de cuatro a cincuenta monómeros de etilenglicol;
- (b) dicha cadena polimérica lineal comprende de diez a cuarenta monómeros de etilenglicol;
- 65 (c) dicha cadena polimérica lineal comprende de quince a treinta monómeros de etilenglicol;
- (d) dicha cadena polimérica lineal comprende de quince a veinticinco monómeros de etilenglicol;
- (e) dicha cadena polimérica lineal comprende de veinte a veinticinco monómeros de etilenglicol;

- (f) dicha cadena polimérica lineal comprende veinte, veintiuno, veintidós, veintitrés, veinticuatro o veinticinco monómeros de etilenglicol;
- (g) dicha cadena polimérica lineal comprende cuatro monómeros de etilenglicol;
- (h) dicha cadena polimérica lineal comprende seis monómeros de etilenglicol;
- (i) dicha cadena polimérica lineal comprende ocho monómeros de etilenglicol;
- (j) dicha cadena polimérica lineal comprende doce monómeros de etilenglicol; o
- (k) en donde dicha cadena polimérica lineal comprende veinticuatro monómeros de etilenglicol.

14. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde:

- (a) dicho al menos un TC se encierra dentro de al menos una nanopartícula que se une a través de un medio de unión a dicho CMP; o
- (b) dicho al menos un TC comprende al menos un grupo hidroxilo reactivo capaz de reticularse con dicho CMP.

15. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho al menos un TC se une directamente a dicho CMP a través de un grupo amino en dicho CMP unido a un grupo hidroxilo en dicho TC.

16. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde:

- (a) dicho CMP comprende al menos un resto de biotina y dicho TC comprende al menos un resto de avidina o estreptavidina, y en donde dicho resto de biotina en dicho CMP se une a dicho resto de avidina o estreptavidina en dicho TC, uniendo de esta manera dicho CMP a dicho TC; o
- (b) dicho CMP comprende al menos un resto de avidina o estreptavidina y dicho TC comprende al menos un resto de biotina, y en donde dicho resto de avidina o estreptavidina en dicho CMP se une a dicho resto de biotina en dicho TC, uniendo de esta manera dicho CMP a dicho TC.

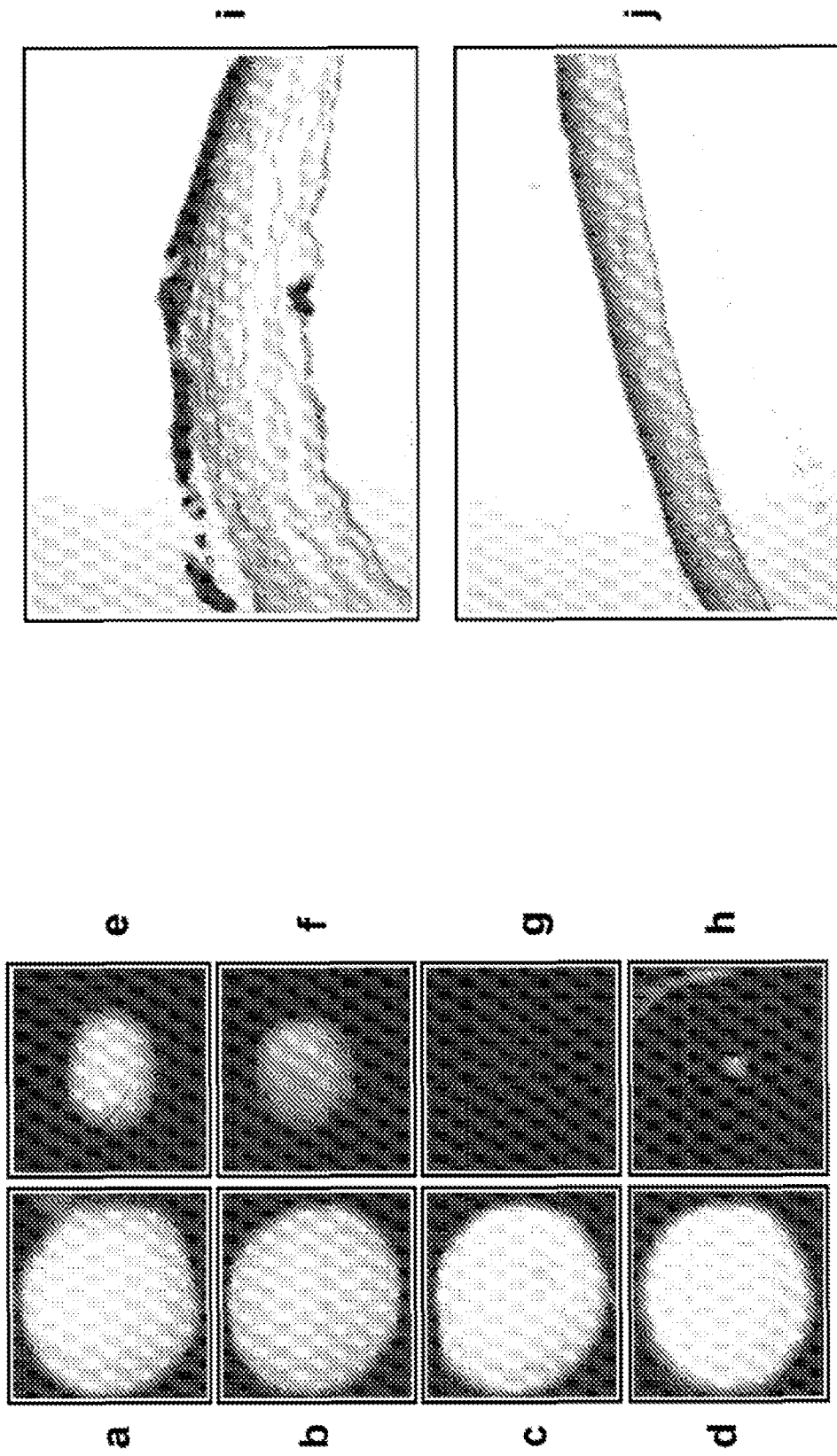
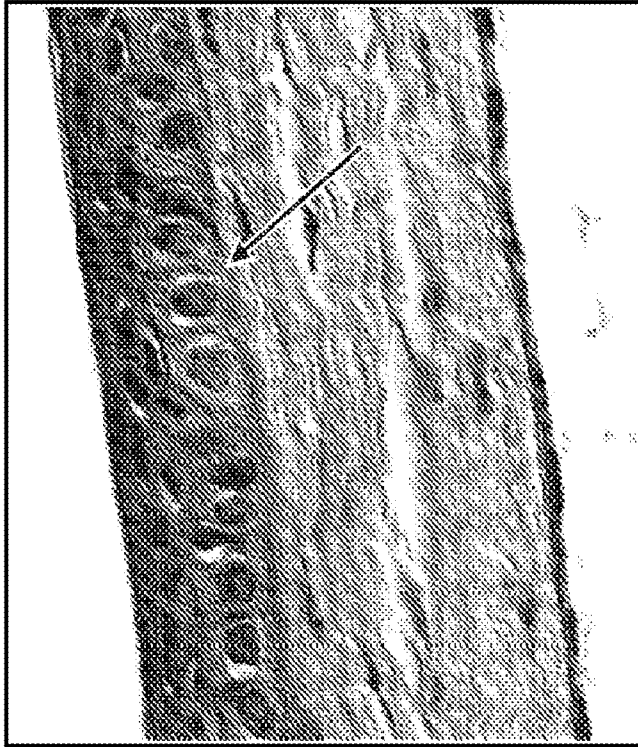
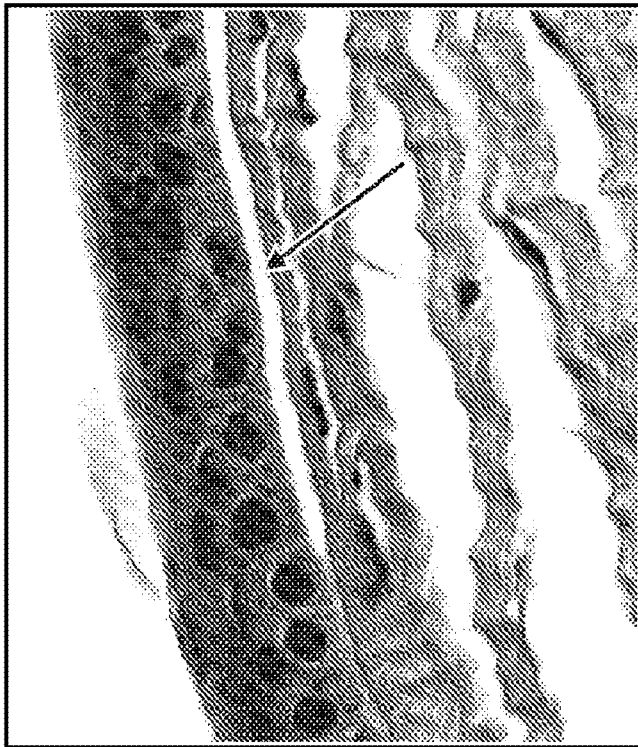


Figura 1



b)



a)

Figura 2

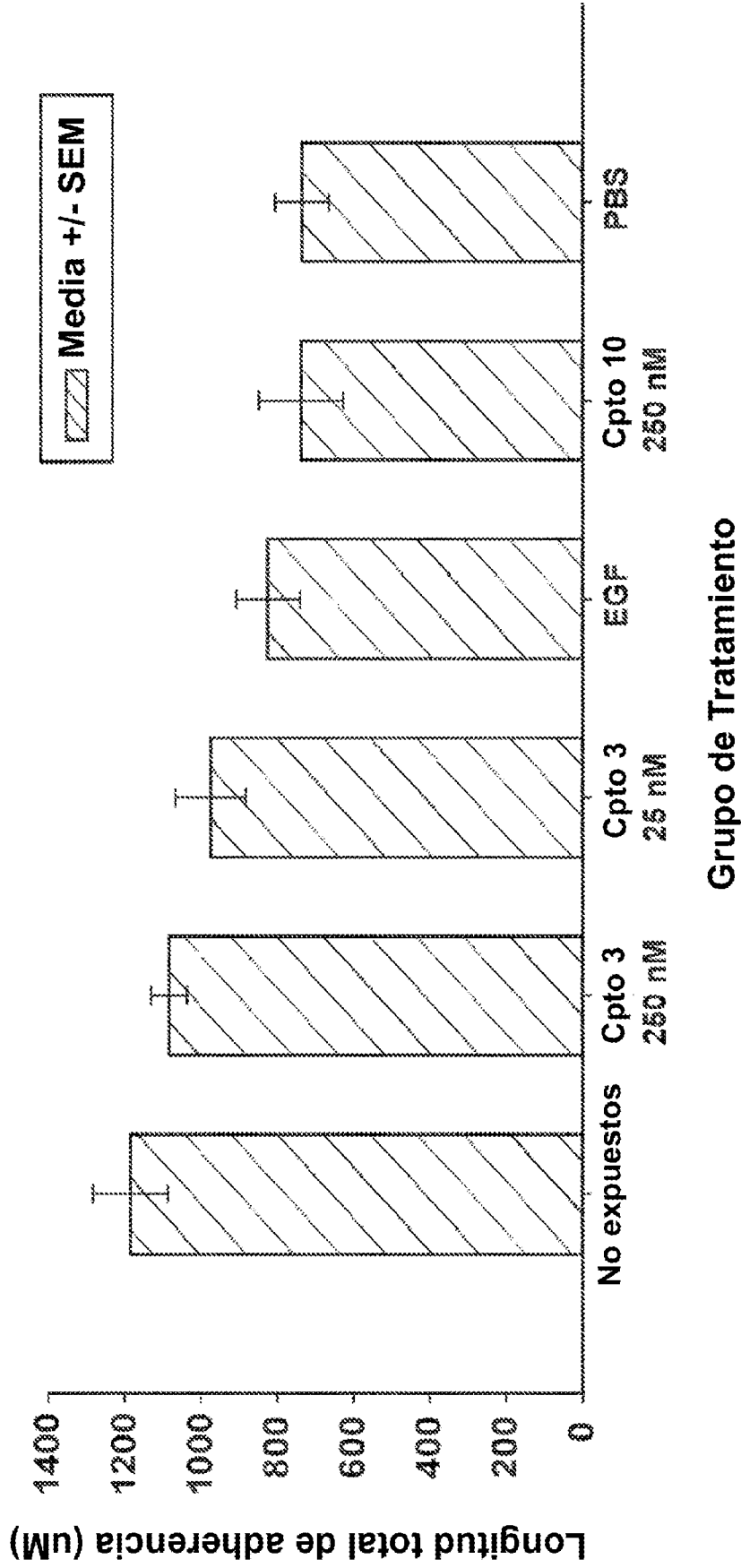
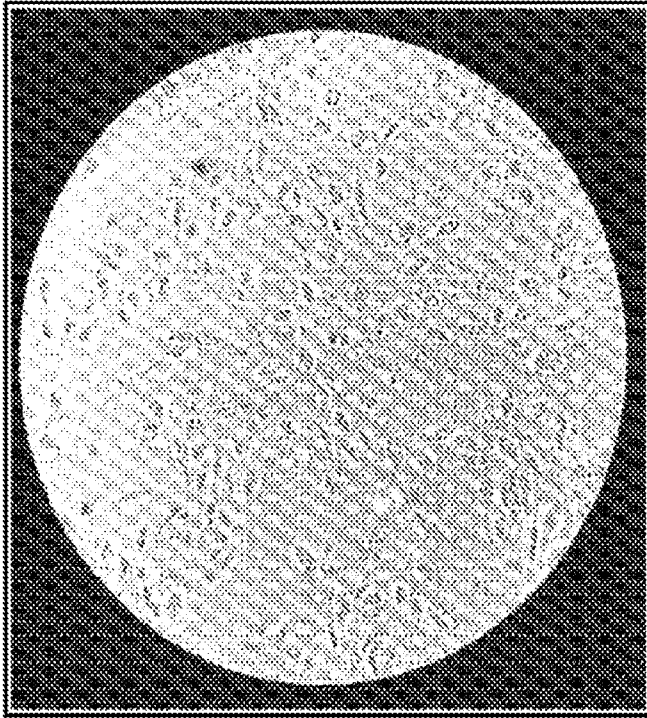
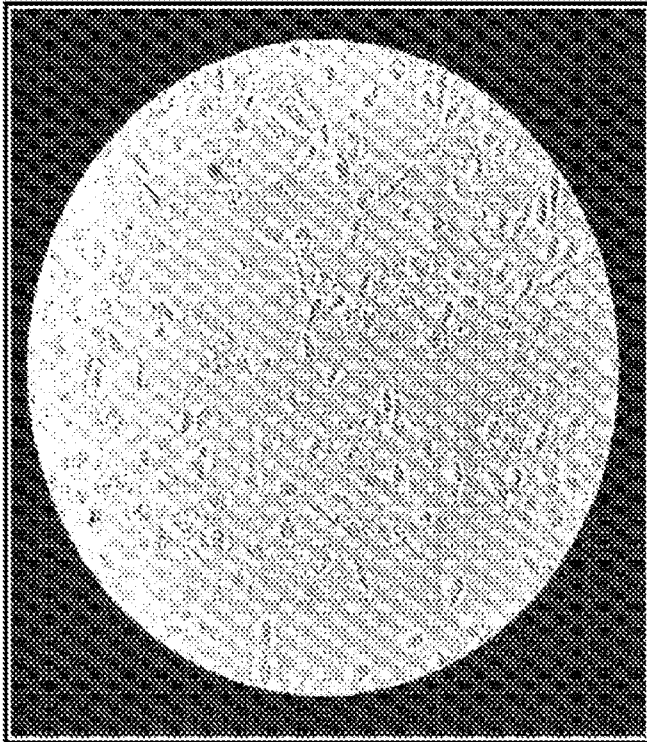


Figura 3

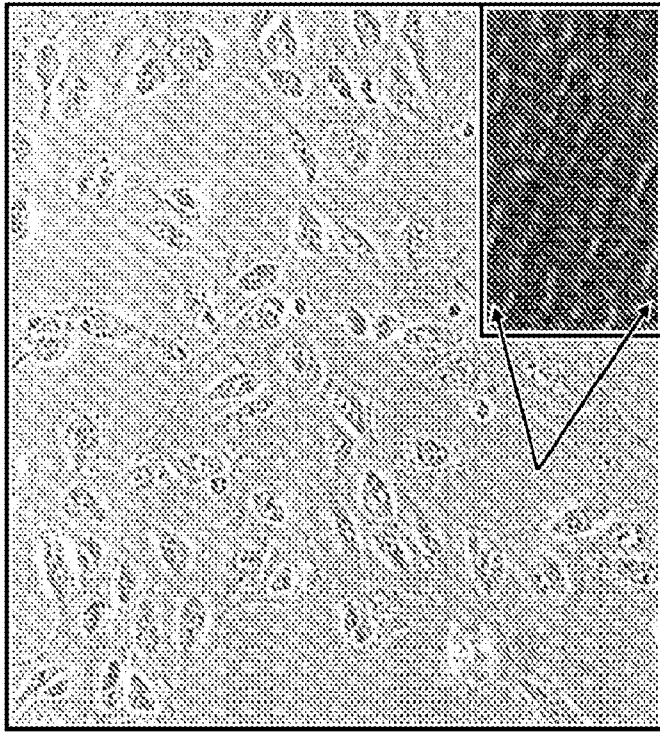


b)

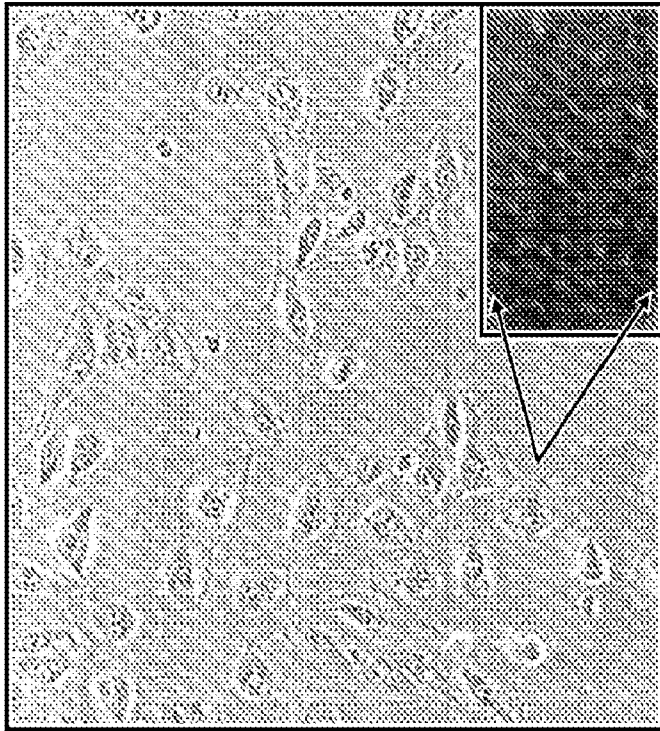


a)

Figura 4



b)



a)

Figura 5

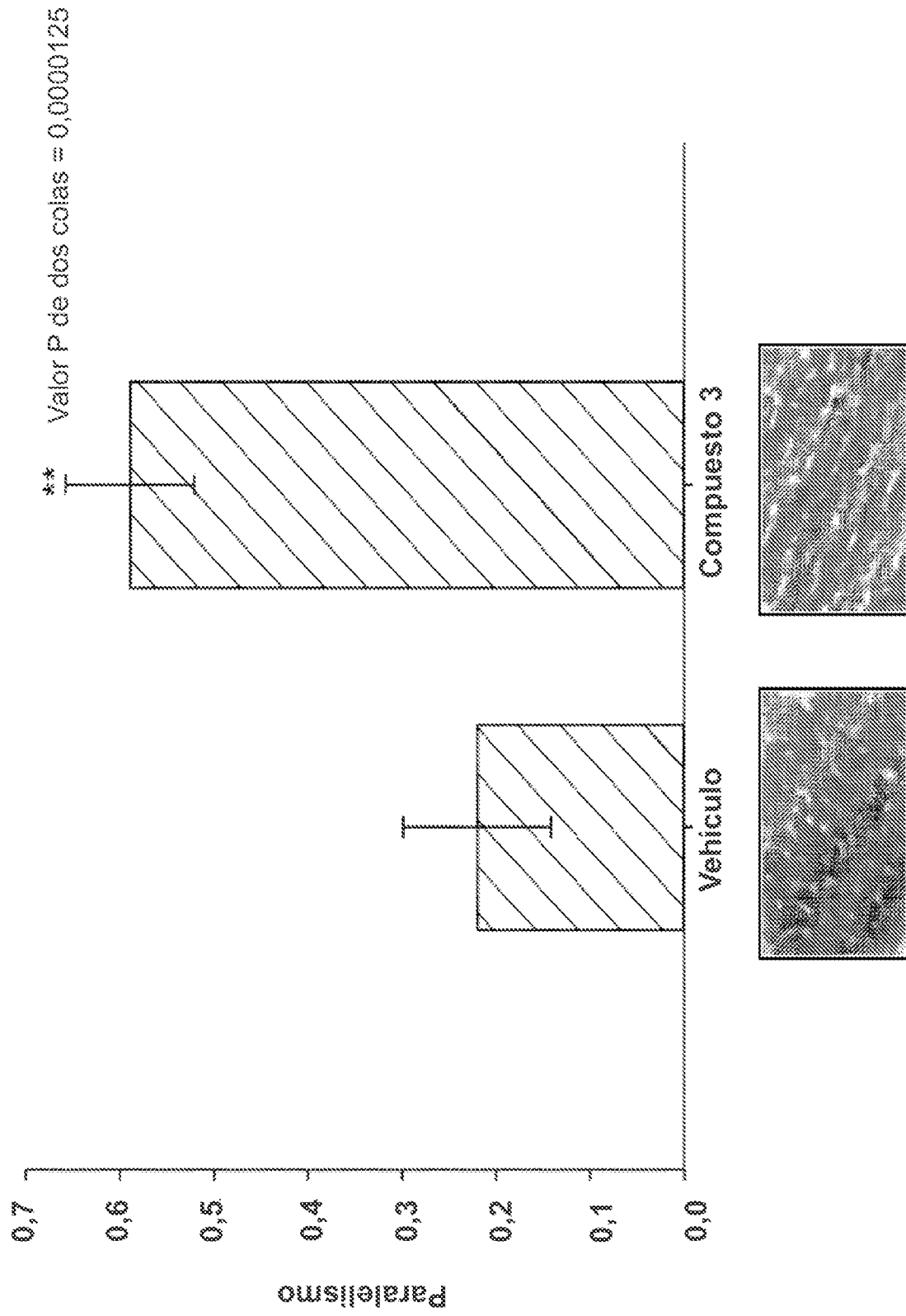


Figura 6

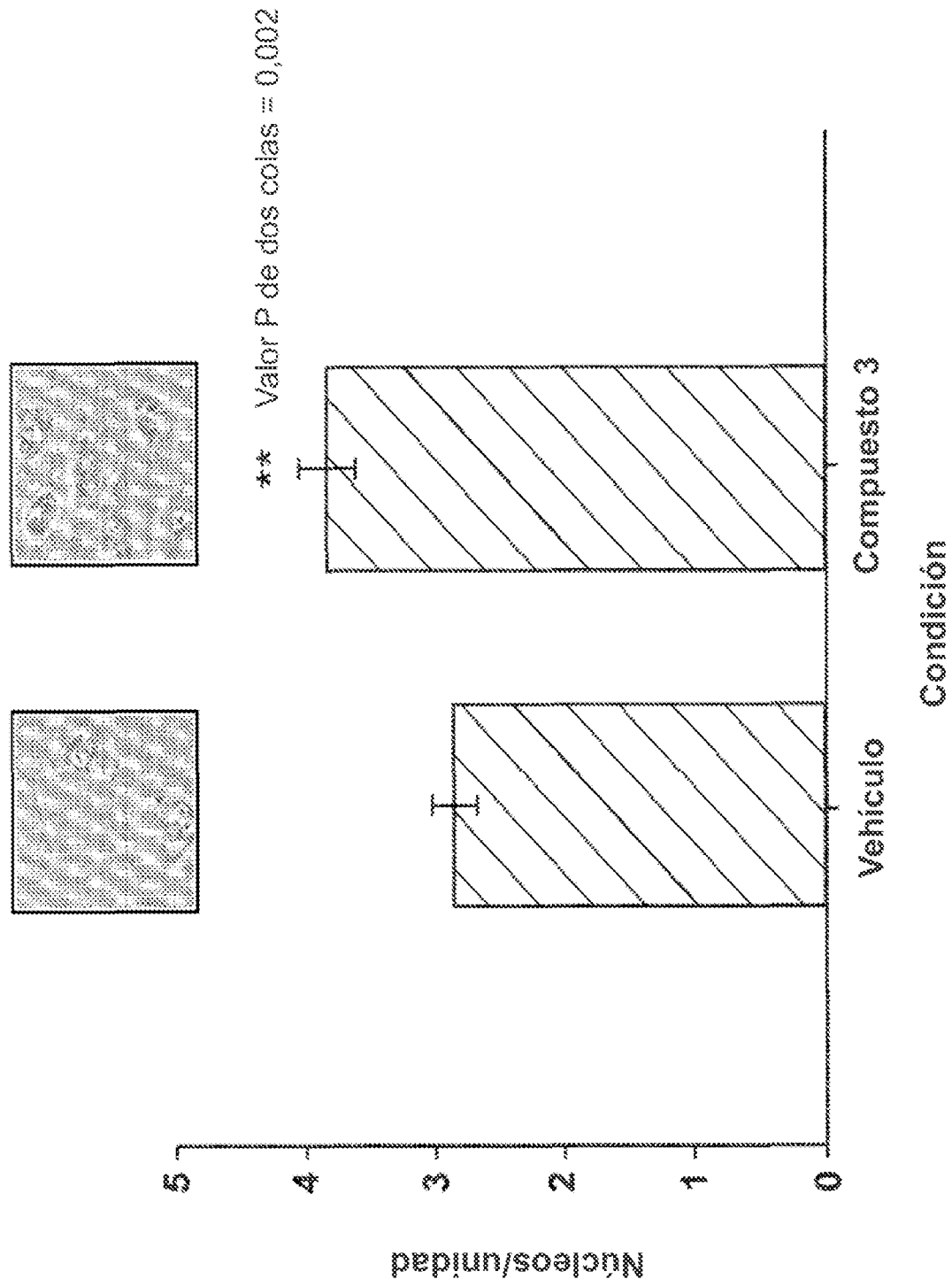


Figura 7

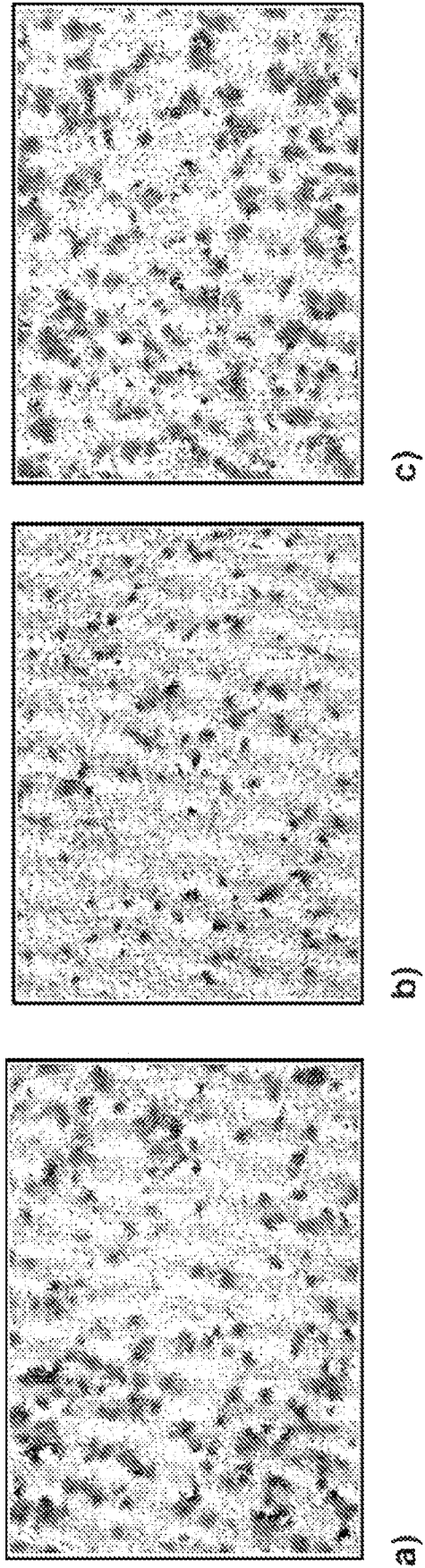


Figura 8

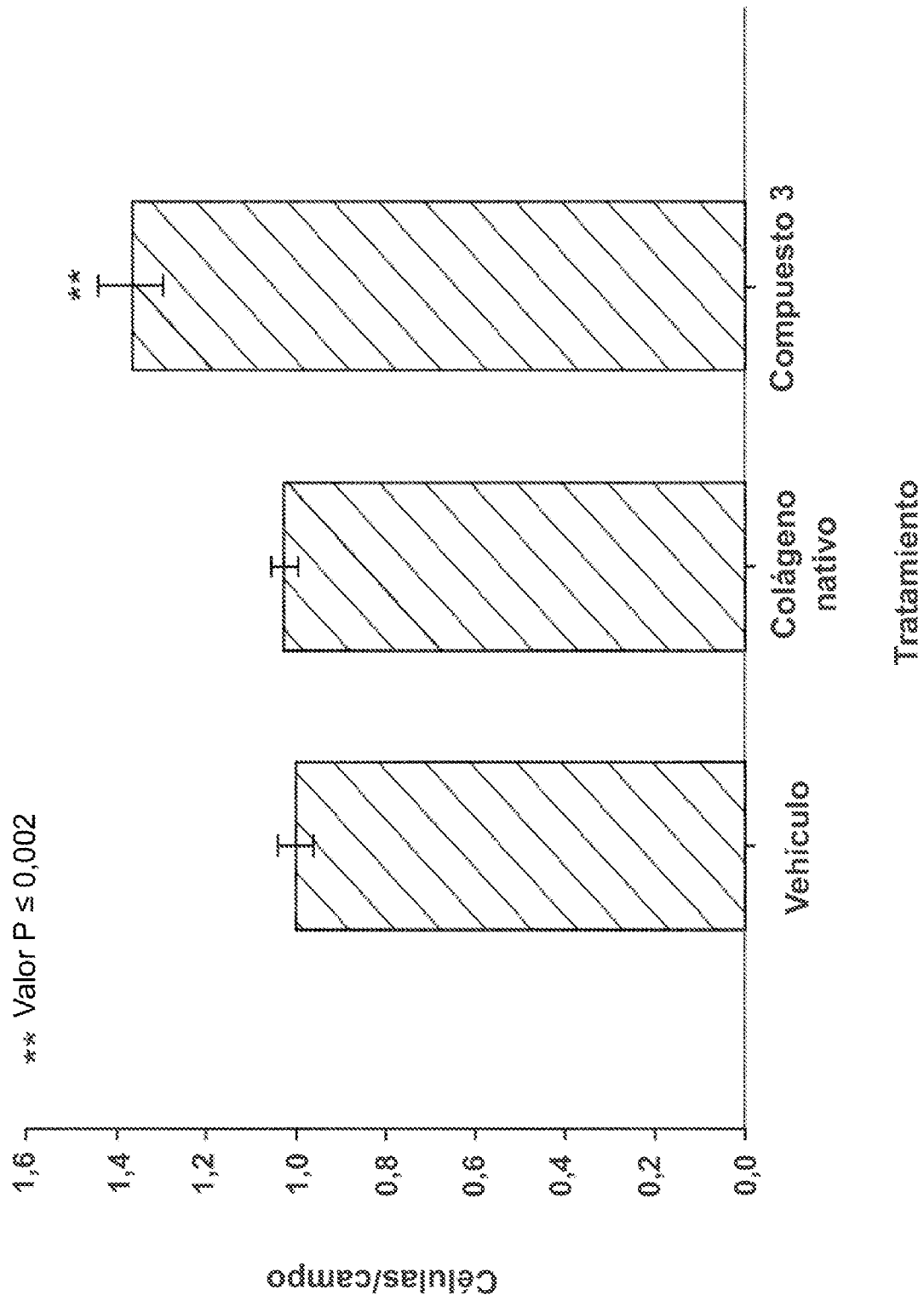


Figura 9

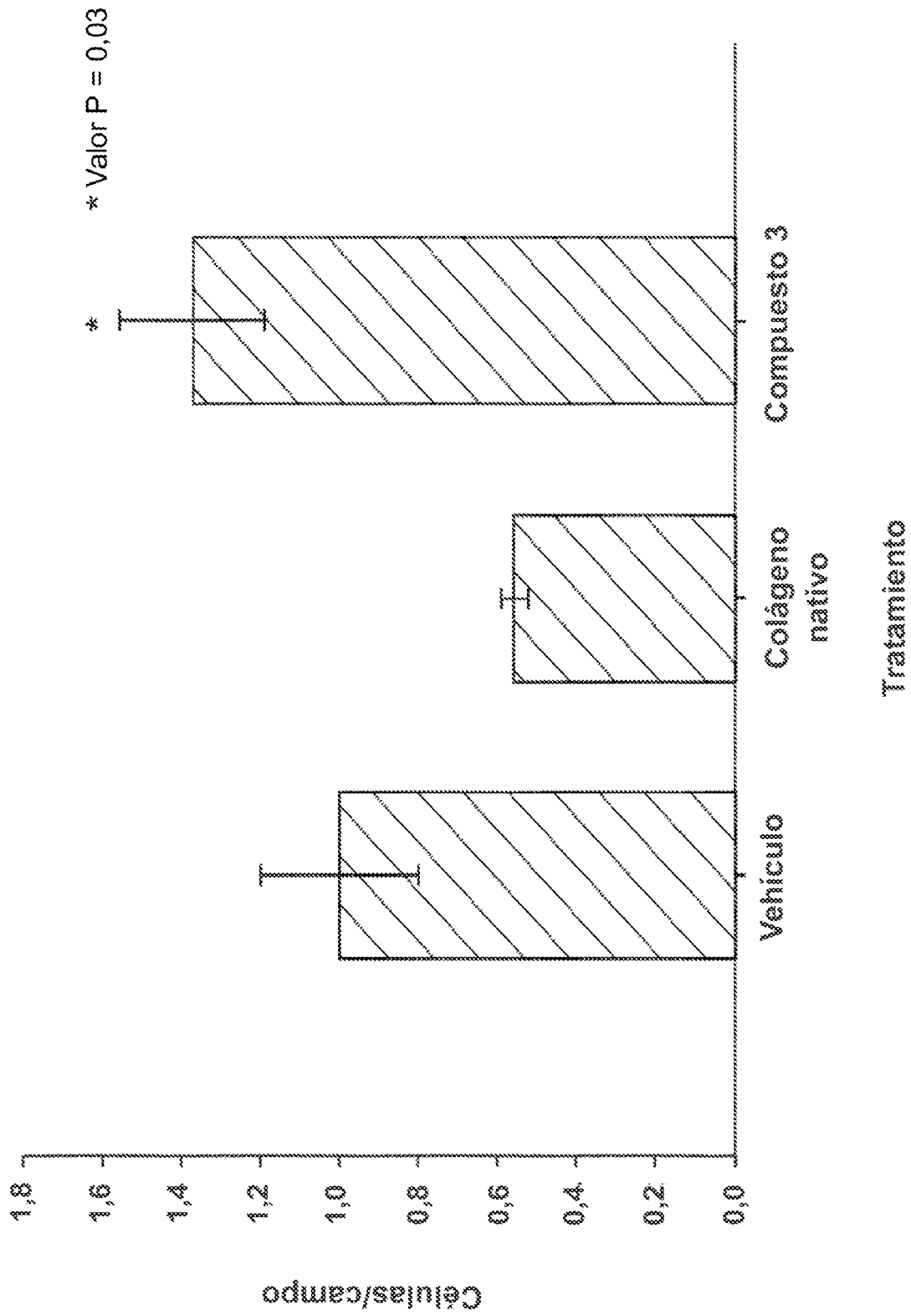


Figura 10

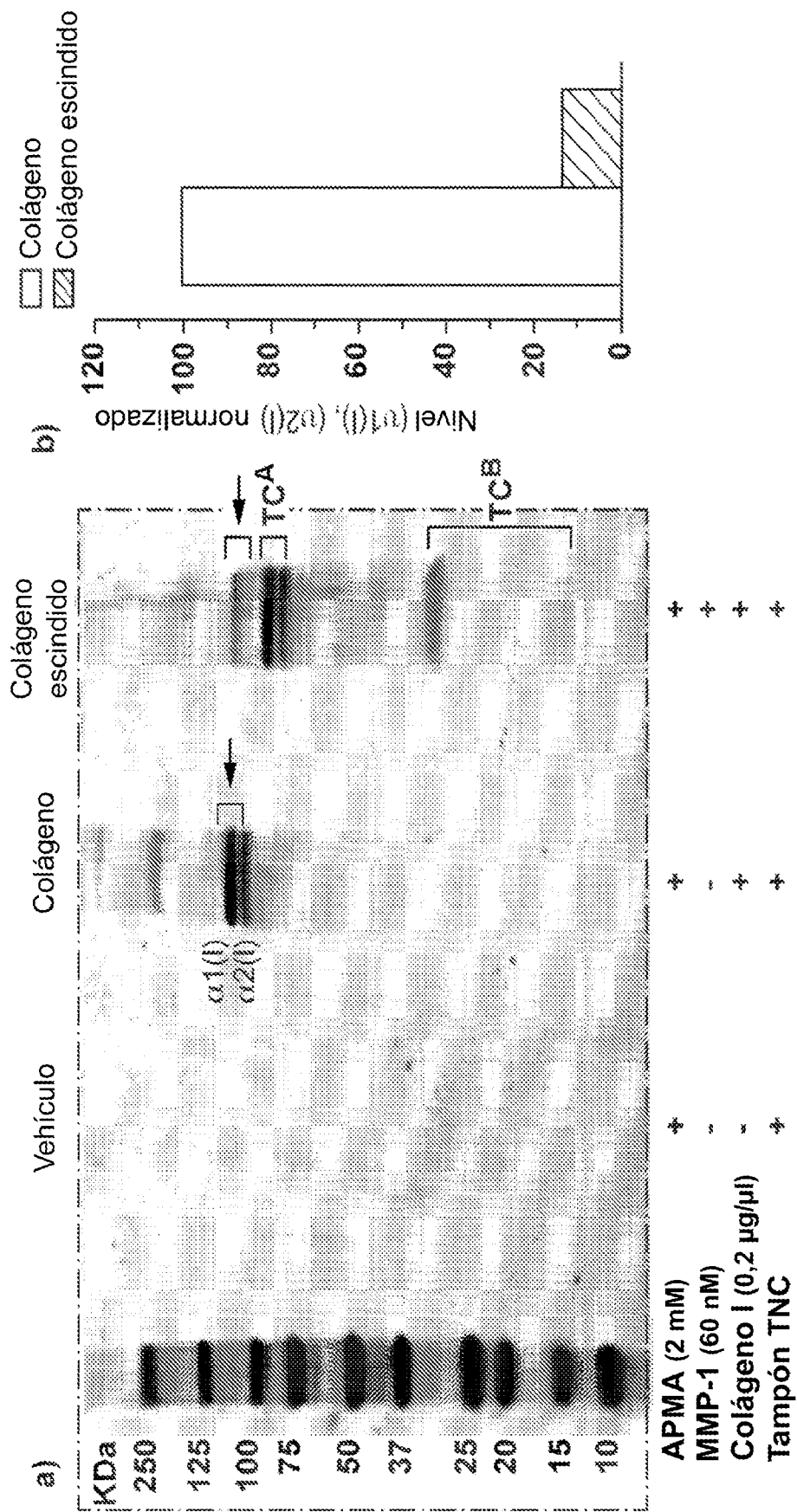
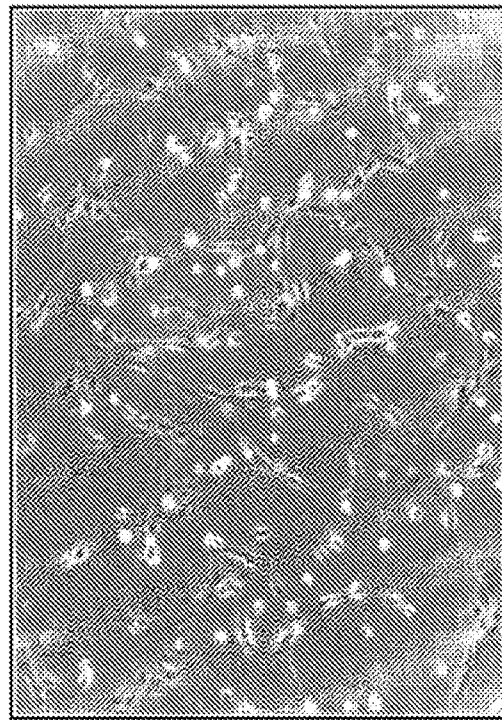


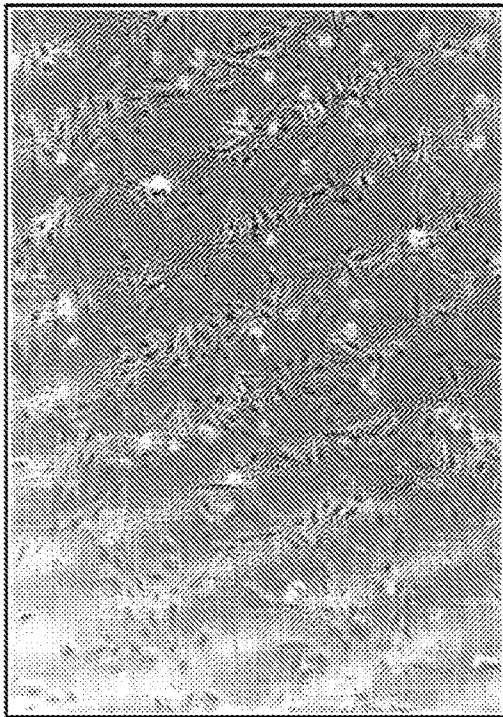
Figura 11



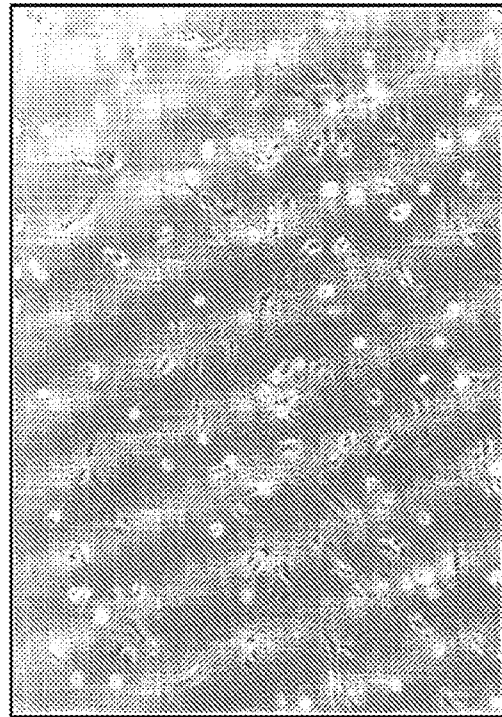
b)



d)



a)



c)

Figura 12

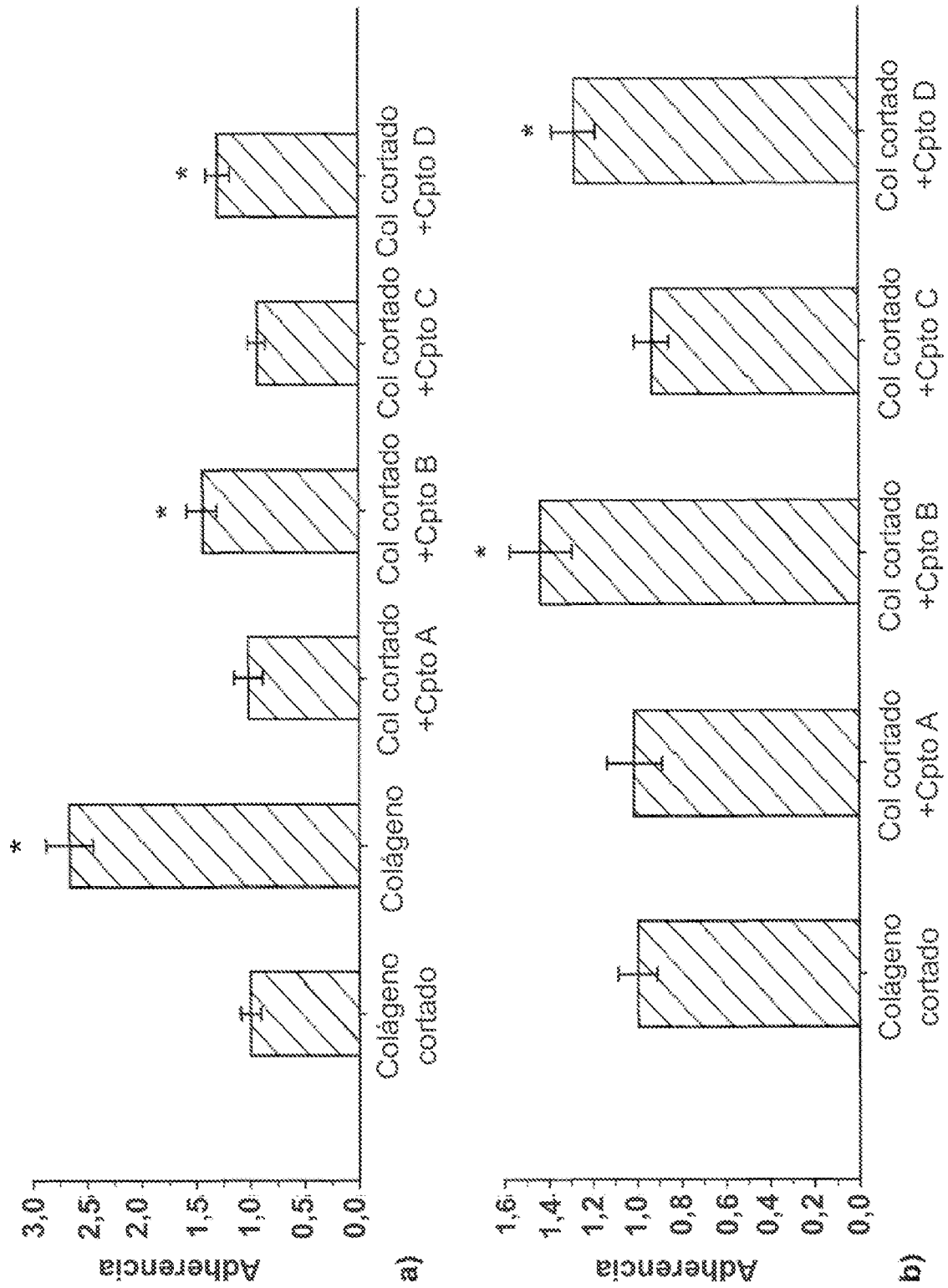


Figura 13

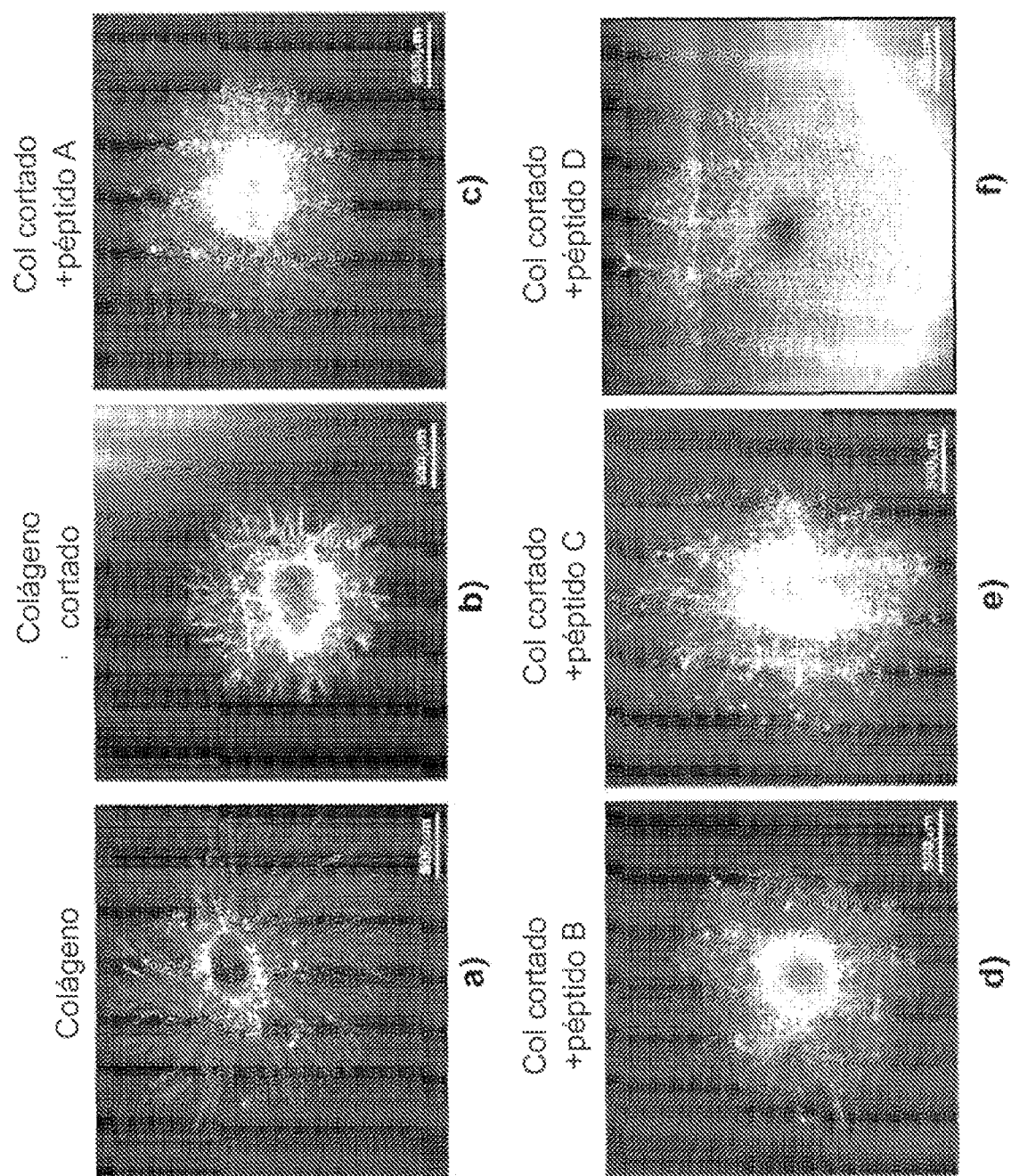


Figura 14

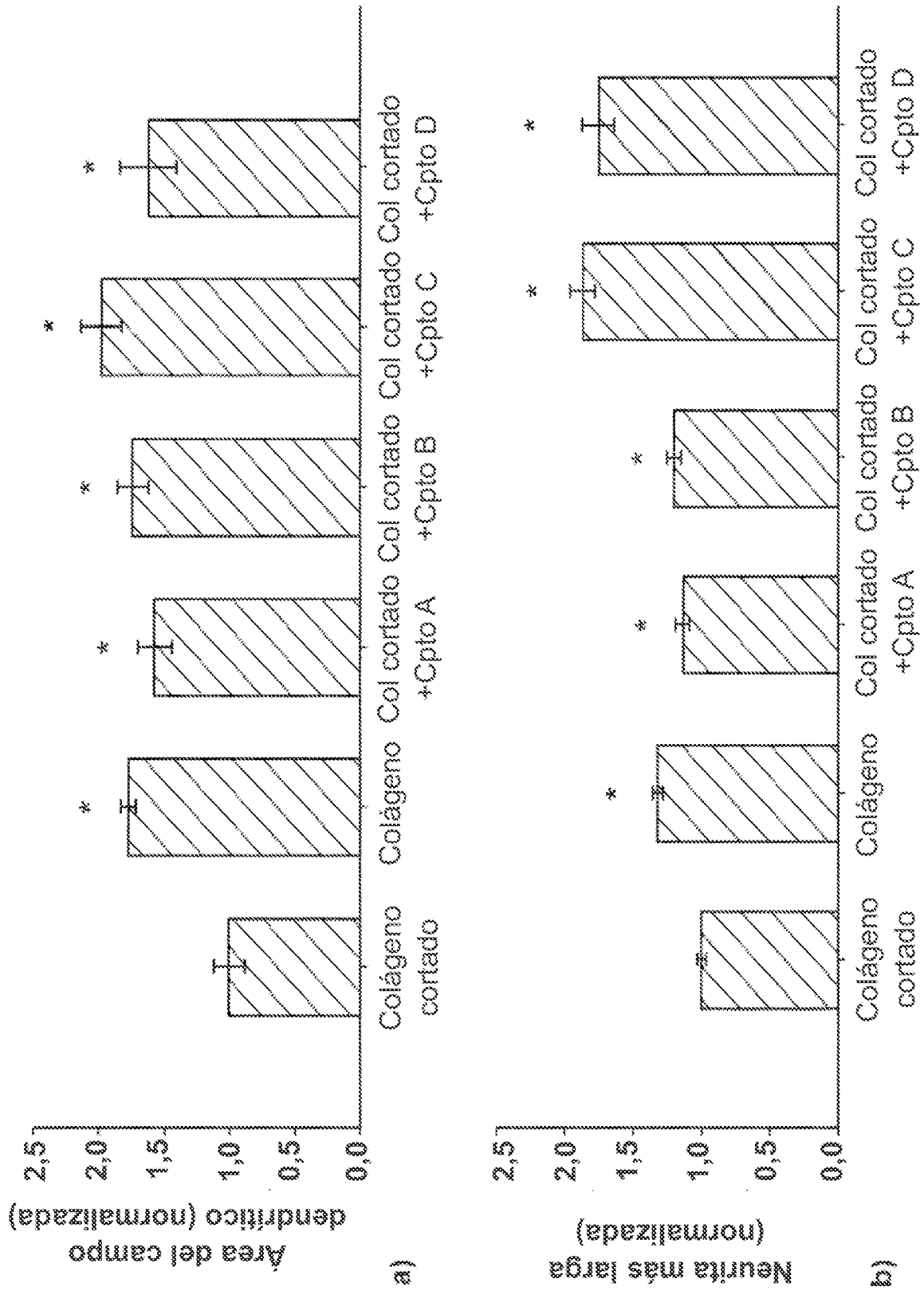
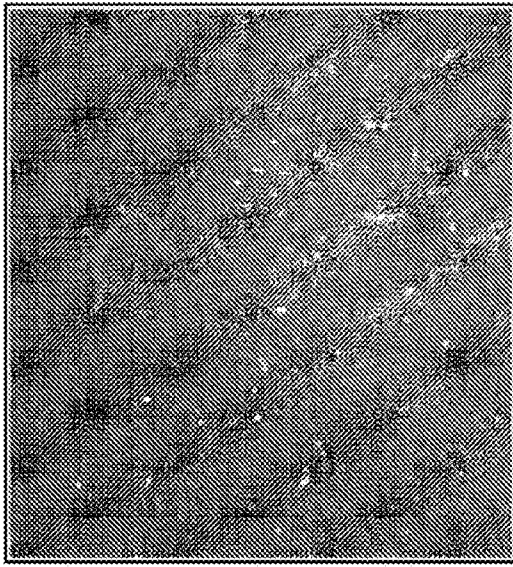
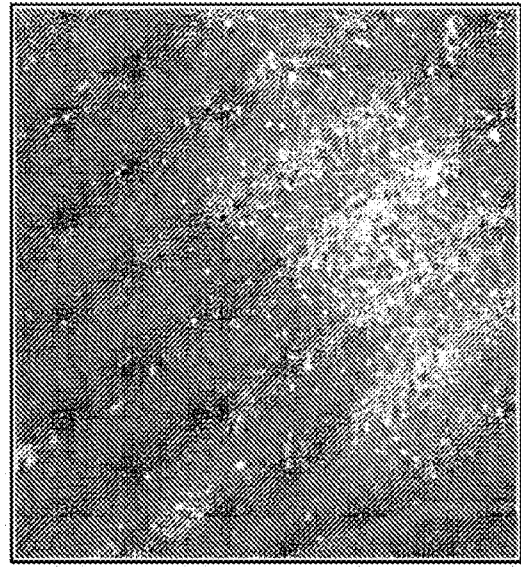


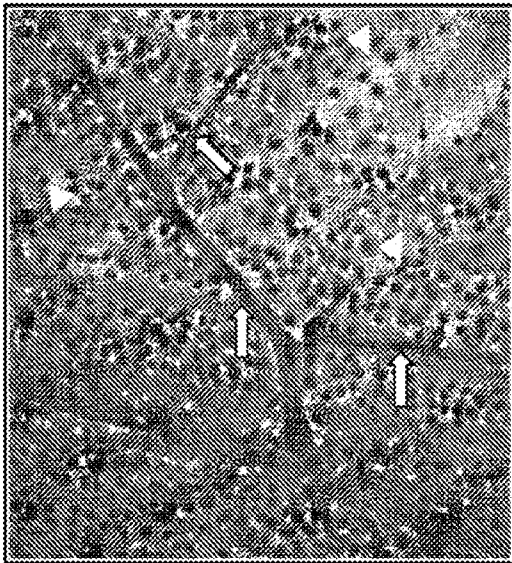
Figura 15



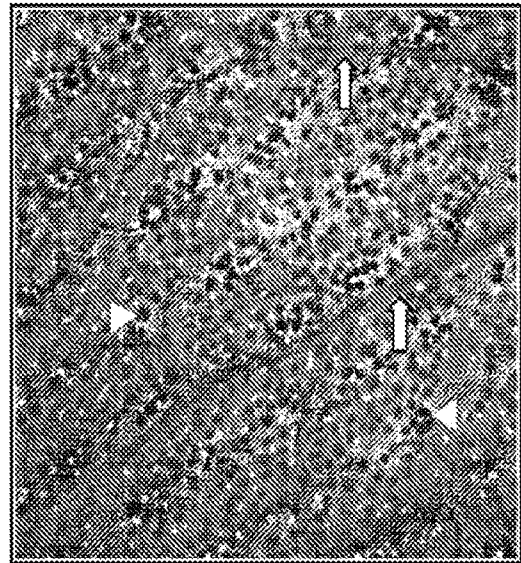
b)



d)



a)



c)

Figura 16