



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 282 130**

51 Int. Cl.:

C07K 5/037 (2006.01)

C07K 7/02 (2006.01)

C07D 277/04 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **00953186 .4**

86 Fecha de presentación : **20.08.2000**

87 Número de publicación de la solicitud: **1206485**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **22.05.2002**

54

Título: **Nuevos efectores de la dipeptidil peptidasa IV para la aplicación tópica.**

30

Prioridad: **24.08.1999 DE 199 40 130**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.10.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.10.2007

73

Titular/es: **Probiodrug AG.**
Weinbergweg 22, Biozentrum
06120 Halle/Saale, DE

72

Inventor/es: **Demuth, Hans-Ulrich;**
Hoffmann, Torsten;
Schlenzig, Dagmar y
Heiser, Ulrich

74

Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 282 130 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

Nuevos efectores de la dipeptidil peptidasa IV para la aplicación tópica.

5 La invención se refiere a nuevos efectores de la dipeptidil peptidasa IV. Estos efectores pueden utilizarse para la influencia selectiva de los procesos fisiológicos y patofisiológicos limitados localmente (inflamaciones, quimiotaxis, enfermedades autoinmunitarias, cicatrización). A este respecto se influncian la actividad enzimática y las actividades de enlace de la dipeptidil peptidasa IV y de enzimas con actividad idéntica o comparable así como de proteínas con estructura primaria derivada (por ejemplo FAP, proteína de activación de fibroblastos, (Fibroblast Activation Protein) 10 (Levy *et al.*, 1999)) por medio de efectores (sustratos, pseudosustratos, inhibidores, anticuerpos, proteínas de enlace, antagonistas de enlace, agonistas de enlace entre otros).

Además de las proteasas, que están incluidas en la proteólisis no específica, lo que provoca finalmente la degradación de las proteínas en aminoácidos, se conocen proteasas reguladoras, que participan en la funcionalización 15 (activación, desactivación, modulación) de principios activos peptídicos endógenos (Kirschke *et al.*, 1995) Kräusslich y Wimmer, 1987). Especialmente en relación con la investigación inmunitaria y la investigación de neuropéptidos se han descubierto una serie de las denominadas convertasas, peptidasas señal o encefalinasas (Gomez *et al.*, 1988) (Ansorge *et al.*, 1991).

20 Debido a la frecuencia de la aparición del aminoácido prolina en un gran número de hormonas peptídicas y a las propiedades estructurales de estos péptidos unidas a ello, se trata, para las peptidasas específicas de prolina, una función análoga a las peptidasas señal (Yaron y Naider, 1993); (Vanhoof *et al.*, 1995). A este respecto, la prolina determina en estos péptidos, mediante su estructura especial, tanto la conformación como la estabilidad de estos péptidos, protegiéndolos antes de la degradación mediante proteasas no específicas (Kessler, 1982). Por el contrario, las 25 enzimas que actúan sobre las secuencias que contienen prolina cambiando la estructura de manera altamente específica de estructura cambiante (proteasa VIH, ciclofilina, entre otros) son objetivos atractivos de la investigación de principios activos actualmente. Especialmente, para las peptidasas que rompen después de la prolina, prolil endopeptidasa (PEP) y dipeptidil peptidasa IV (DP IV), pudieron establecerse probablemente relaciones entre la modulación de la actividad biológica de los sustratos peptídicos naturales y su ruptura selectiva mediante estas enzimas. Así se supone que la PEP 30 desempeña un papel en el aprendizaje o en el proceso de la memoria y la DP IV en la transmisión de señal durante la respuesta inmunitaria (Ishiura *et al.*, 1989); (Hegen *et al.*, 1990).

La actividad DP IV o análoga a DP IV (por ejemplo, la DP II liposomal presenta una especificidad de sustrato casi idéntica a la de la DP IV) se produce en la circulación sanguínea así como en casi todos los órganos, en los que rompe 35 de manera altamente específica dipéptidos de extremo N terminal de péptidos biológicamente activos, cuando prolina o alanina representan los restos adyacentes de los aminoácidos de extremo N terminal en su secuencia. Por eso, de esto se asume que esta enzima participa en la regulación de la actividad biológica de polipéptidos *in vivo* (Vanhoof *et al.*, 1995).

40 Se ha mostrado recientemente que una serie de quimiocinas (RANTES, SDF-1alfa, MDC, eotaxina entre otros) son sustratos de la DP IV y se modula su función mediante la DP IV (Proost *et al.*, 1998; Proost *et al.*, 1998; Proost *et al.*, 1999); (Shioda *et al.*, 1998)). Las quimiocinas participan mediante su efecto quimiotáctico fundamentalmente en la regulación de procesos locales inmunológicos, tales como procesos autoinmunitarios, inflamaciones y cicatrización (Nelson y Krensky, 1998). En trabajos más recientes pudimos demostrar que también los péptidos biológicamente 45 activos con serina o treonina en la posición P₁ (glucagón, VIP, PACAP) presentan sustratos de la DP IV.

Una serie de sustratos de la DP IV biológicamente activos (sustancia P, somatostatina, VIP, PACAP entre otros) participan en la regulación de procesos neuronales, inmunológicos y vasoactivos en la piel (Scholzen *et al.*, 1998); (Wallengren, 1997). La dipeptidil peptidasa IV representa por consiguiente un punto de conexión en la regulación de la 50 actividad de los péptidos gastrointestinales, inmunológica o neurológicamente activos y con esto una diana terapéutica interesante (Augustyns *et al.*, 1999). Sin embargo las propias cascadas de señales no se esclarecen totalmente en detalle.

Existen conocimientos más precisos sobre el papel de la DP IV en la regulación de la glucemia. Mediante la 55 proteólisis limitada se inactivan las GIP₁₋₄ y GLP-1₇₋₃₇. Una inhibición de la actividad de la DP IV en plasma conduce a través de una actividad prolongada de la incretina y una liberación de insulina reforzada, a una normalización de los niveles de glucemia (Demuth *et al.*, 1996; Pauly *et al.*, 1999; Pauly *et al.*, 1996).

60 Todavía no está totalmente claro el papel de la DP IV en el sistema inmunitario. Ésta es un marcador de la activación de linfocitos T así como un receptor para la adenosindesaminasa. La utilización de inhibidores de la DP IV tiene efectos inmunosupresores en el cultivo celular e *in vivo* (Ansorge *et al.*, 1995; Reinhold *et al.*, 1997; Kubota *et al.*, 1992). Con anticuerpos monoclonales frente a CD26 se obtuvieron efectos estimuladores en parte independientemente de la actividad enzimática de la enzima sobre cascadas de señales intracelulares (flujo de Ca²⁺, activaciones de cinasa) (Hegen *et al.*, 1993; Kameoka *et al.*, 1995; Tanaka *et al.*, 1993; Kähne *et al.*, 1995). 65

Análogos de Lisil-prolil derivados de la secuencia del extremo N terminal de la sustancia P, mostraron un efecto fomentador sobre la cicatrización, que se atribuye a la semejanza estructural con la sustancia P. Los inhibidores de la

DP IV irreversibles utilizados de manera sistémica condujeron contra eso a una inhibición de la cicatrización (Buntrock *et al.*, 1988; Kohl *et al.*, 1991; Kohl *et al.*, 1989).

Además del empleo de inhibidores de la DP IV para la normalización de la glucemia se utilizaron inhibidores de la DP IV hasta ahora de manera sistémica para el tratamiento de artritis en modelos animales. En el caso de pacientes con artritis, así como en modelos de artritis animales, se observó una reducción de la actividad de la DP IV (Küllertz and Boigk, 1986) (Fujita *et al.*, 1992). Especialmente mediante la aplicación oral o subcutánea de inhibidores de la DP IV que actúan de forma sistémica se consiguió en modelos animales una supresión de la artritis inducida por alquildiamina (Tanaka *et al.*, 1997; Tanaka *et al.*, 1998).

También se obtuvo un efecto mediante inhibidores de la DP IV en relación con otras enfermedades autoinmunitarias. Así mediante la inhibición de la DP IV pudo conseguirse una supresión de la proliferación de clones de células T específicos de “proteína básica mielina” (“myelin basic protein”) (Reinhold *et al.*, 1998). En el caso de distintas enfermedades (psoriasis, liquen plano) y enfermedades cancerígenas de la piel, pudo demostrarse un aumento de la actividad de la DP IV en queratinocitos y fibroblastos (Novelli *et al.*, 1996) (Raynaud *et al.*, 1992). También la “proteína de activación de fibroblastos” muy similar a la DP IV, que presenta aproximadamente un 50% de homología de secuencia con respecto a la DP IV y probablemente es idéntica a la seprasa descrita por Piñero-Sanchez *et al.*, 1997, se expresa de manera reforzada en fibroblastos inactivados de carcinomas epiteliales y heridas que se están curando (Niedermeyer *et al.*, 1998).

Debido a la amplia propagación de la proteína en el organismo y a los múltiples mecanismos en los que están implicadas las actividades de la DP IV, la DP IV y proteínas unidas a la DP IV, una terapia sistémica (aplicación enteral o parenteral) con inhibidores de la DP IV, puede conducir a una serie de efectos secundarios indeseados. Así interviene una aplicación parenteral o enteral de inhibidores de la DP IV que regulan o desregulan en el metabolismo de la glucosa.

Pudo entonces mostrarse que, los sustratos la enzima dipeptidil peptidasa IV modificados en las cadenas laterales de pueden reconocerse mediante la enzima y romperse tal como sustratos no modificados. (DEMUTH, H.-U., HEINS, J., 1995).

Así pudo mostrarse por ejemplo que dipéptido-(B)-*p*-nitroanilida fosforilada [KASPARI, A., *et al.*, 1996] son sustratos de la DP IV. Inhibidores de la DP IV tales como por ejemplo Glu(Gly)-Thia o Lys(Z-NO₂)-Thia [REINHOLD, D., *et al.*, 1998] se transportan completamente.

El objetivo a solucionar consistía en producir compuestos que pueden utilizarse para la influencia selectiva de los procesos fisiológicos y patofisiológicos limitados localmente. Especialmente el objetivo de la invención consiste en obtener una inhibición limitada localmente de la actividad de la DP IV o análoga a la DP IV, para poder con esto intervenir de manera selectiva en la regulación de la actividad de hormonas peptídicas que actúan localmente.

Este objetivo se soluciona según la invención mediante la preparación de compuestos de fórmula general



en los que

A es un aminoácido con al menos un grupo funcional en la cadena lateral,

B es un compuesto químico que está unido covalentemente al menos a un grupo funcional de la cadena lateral de A, concretamente

- oligopéptidos con una longitud de cadena de hasta 20 aminoácidos, excepto homopolímeros de glicina de hasta 6 monómeros de glicina, o
- polietilenglicoles con pesos moleculares de hasta 20000 g/mol, y

C es un grupo tiazolidina, pirrolidina, cianopirrolidina, hidroxiprolina, deshidroprolina o piperidina, que presenta un enlace amida con A.

Especialmente, según la invención se prepara al menos una composición farmacéutica, que contiene al menos un compuesto de fórmula general



ES 2 282 130 T3

A es preferiblemente un α -aminoácido, especialmente preferible un α -aminoácido natural, preferiblemente treonina, tirosina, serina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína.

Preferiblemente, los oligopéptidos son homopolímeros, copolímeros o polímeros en bloque.

Además se usan compuestos o composiciones farmacéuticas de este tipo para la influencia tópica especialmente de la reducción de la actividad de la dipeptidil peptidasa IV o enzima análoga.

En toda la descripción y en las reivindicaciones la expresión “alquilo” puede representar un grupo alquilo C_{1-50} , preferiblemente un grupo alquilo C_{6-30} , preferiblemente un grupo alquilo C_{8-12} ; así puede ser un grupo alquilo por ejemplo un grupo metilo, etilo, propilo, isopropilo o butilo; la expresión “alc” por ejemplo en la expresión “alcoxilo” y la expresión “alcano” por ejemplo en la expresión “alcanoilo” es tal como se define “alquilo”; preferiblemente, los compuestos aromáticos son grupos antraceno, bifenilo, naftilo, bencilo o fenilo sustituidos o dado el caso no sustituidos, que presentan preferiblemente 8 átomos de C; la expresión “alquenilo” puede representar un grupo alquenilo C_{2-10} , preferiblemente un grupo alquenilo C_{2-6} , que presenta el/los doble(s) enlace(s) en cualquier posición y puede estar no sustituido o sustituido; la expresión “alquinilo” puede representar un grupo alquinilo C_{2-10} , preferiblemente un grupo alquinilo C_{2-6} , que presenta el/los triple(s) enlace(s) en cualquier posición y puede estar no sustituido o sustituido; la expresión “sustituido” o sustituyente puede representar cualquier sustitución mediante uno o varios, preferiblemente uno o dos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxialquilo, alcoxialcanoilo, alcanoilo o acilo mono o polivalente; los sustituyentes citados anteriormente pueden presentar por otra parte uno o varios, sin embargo preferiblemente ningún grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxialquilo, alcoxialcanoilo, alcanoilo o acilo mono o polivalente como grupos laterales; los ácidos, alcoholes, amidas o aminas orgánicos con en cada caso de 8 a 50 átomos de C, preferiblemente con de 10 a 20 átomos de carbono, presentan la fórmula $(alquil)_2N-$ o $alquil-NH-$, $-CO-N(alquil)_2$ o $-CO-NH(alquil)$, $-alquil-OH$ o $-alquil-COOH$.

Los compuestos según la invención pueden, a pesar de la función lateral prolongada, unirse todavía al centro activo de la enzima dipeptidil peptidasa IV y a enzimas análogas, pero ya no se transportan de manera activa mediante el transportador peptídico PepT1. La transportabilidad de los compuestos de la presente invención, fuertemente limitada o reducida que resulta de esto, conduce de manera ideal a una inhibición tópica, local, de la DP IV y enzimas análogas.

Los compuestos según la invención o compuestos relacionados según la invención pueden encontrarse o usarse como racematos o como compuestos enantioméricos puros, preferiblemente en la forma L-threo o L-allo, con respecto a A.

Una intervención local en la regulación de hormonas peptídicas mediante la aplicación tópica de inhibidores de la DP IV específicos ofrece con esto la posibilidad de evitar efectos secundarios sistémicos provocados mediante la administración enteral o parenteral de inhibidores de la DP IV, puesto que sólo tiene lugar una inhibición limitada localmente de la actividad de la DP IV. Los procesos de regulación sistémica o procesos de regulación en otros tejidos permanecen en su mayor parte intactos, puesto que se evita una distribución sistémica rápida de estos compuestos.

Mediante la prolongación/aumento de las modificaciones de las cadenas laterales, por ejemplo a través de índice de átomos de carbono de siete átomos de carbono en adelante, puede obtenerse así según la invención una reducción dramática de la transportabilidad (tabla 1). Los ejemplos en la tabla 1 muestran claramente que con tamaño espacial creciente de las cadenas laterales disminuye la transportabilidad de las sustancias. Mediante el aumento estérico y espacial de las cadenas laterales, por ejemplo a través de los tamaños de los grupos atómicos de un resto de aminoácido, resto de hidroxilamina o resto de fenilo monosustituido en adelante, se puede suprimir o modular según la invención la transportabilidad de las sustancias objetivo.

Con esto se posibilita la influencia discriminatoria de la actividad de la DP IV en organismos vivos.

Mediante la invención puede conseguirse con esto por un lado un efecto eficaz de los inhibidores en los tejidos que han de tratarse, y por otro lado pueden evitarse en la mayoría de los casos mediante aplicación limitada localmente, o sea tópica de inhibidores de la DP IV, efectos sistémicos de los inhibidores. Con esto se consigue una influencia carente de efectos secundarios y eficaz, de los procesos locales fisiológicos y patofisiológicos (inflamaciones, psoriasis, artritis, enfermedades autoinmunitarias, alergias).

La invención se apoya en los siguientes hechos:

- los inhibidores de la DP IV administrados por vía enteral o parenteral, es decir, por vía oral o por vía i.v. o por vía subcutánea se distribuyen de manera sistémica e inhiben la DP IV y actividades análogas en organismos totales.

- Una serie de sustratos peptídicos bioactivos de la DP IV están implicados contra esto en la regulación de cascadas de señales locales (quimiotaxis, inflamaciones, neurotransmisión).

- Sorprendentemente, los inhibidores de la DP IV modificados en la cadena lateral según la invención, muestran un elevado potencial inhibidor, sin embargo se no se absorben ni se transportan o lo hacen difícilmente, y con esto no conducen de manera demostrable a efectos sistémicos.

O sea la invención proporciona nuevos inhibidores de la DP IV y una forma novedosa de proceder para la aplicación de los inhibidores de la DP IV *in vivo*. Los inhibidores correspondientes pueden adaptarse al tipo de aplicación mediante formulaciones o modificaciones químicas. Así, por ejemplo mediante sustituciones hidrófilas voluminosas en la cadena lateral, se evita o dificulta una distribución sistémica.

Los inhibidores pueden administrarse en preparaciones farmacéuticas y cosméticas.

La aplicación tópica comprende a este respecto la aplicación local de los inhibidores mediante aplicación directa al tejido que ha de tratarse (por ejemplo, piel, heridas, tumores) mediante pomadas, cremas, productos cosméticos, o aplicación indirecta mediante emplastos, vendas u otros, que contienen el efector, mediante aplicación en partes del cuerpo (boca, nariz, oídos, ojos, pulmón) en forma de gotas, aerosoles, inhaladores u otros, mediante inyección directa en o alrededor del tejido que ha de tratarse y mediante implantación de materiales que contienen el efector. La aplicación tópica comprende además la aplicación oral o anal de efectores de absorción difícil o que no pueden absorberse de la dipeptidil peptidasa IV o de secuencias análogas a DP IV para influir de manera selectiva en la DP IV gastrointestinal.

Según la invención se utilizan especialmente compuestos, en los que los oligopéptidos presentan longitudes de cadena de desde 3 hasta 15, especialmente preferible de desde 4 hasta 10 aminoácidos, y/o los polietilenglicoles presentan pesos moleculares de al menos 250 g/mol, preferiblemente de al menos 1500 g/mol y hasta 15000 g/mol, y/o los, compuestos aromáticos, ácidos, alcoholes, amidas o aminas orgánicos, sustituidos dado el caso presentan al menos 12 átomos de carbono y preferiblemente hasta 30 átomos de carbono. Además se muestran composiciones farmacéuticas y cosméticas, que contienen al menos un compuesto según la invención dado el caso en combinación con vehículos o adyuvantes en sí habituales.

Las composiciones farmacéuticas o cosméticas o compuestos según la invención o pueden utilizarse para influir de manera tópica en la actividad de la dipeptidilpeptidasa IV o de enzimas análogas, especialmente para profilaxis o terapia de enfermedades de la piel o la mucosa, enfermedades autoinmunitarias e inflamaciones como por ejemplo psoriasis, alergias, artritis, tumores o enfermedades autoinmunitarias.

Los compuestos y composiciones farmacéuticas o cosméticas pueden formularse y utilizarse como pomada, crema, producto cosmético, emplasto, venda, gotas, aerosol, inhalador, implante o disolución de inyección.

Se conocen en sí los adyuvantes utilizados según la invención.

O sea la invención se refiere a la aplicación tópica de efectores de la dipeptidil peptidasa IV así como de actividades enzimáticas análogas a DP IV y de proteínas similares a DP IV. La aplicación tópica permite una modulación local de las actividades de las enzimas altamente específicas mencionadas anteriormente, que participan en la inactivación y activación de péptidos biológicamente activos (quimiocina, sustancia P, VIP, PHM, PACAP, factores de crecimiento, entre otros). Por ello es posible una intervención acertada en procesos inmunológicos locales (quimiotaxis, procesos de inflamación, enfermedades autoinmunitarias) y un tratamiento eficaz y acertado de procesos fisiológicos y patofisiológicos asociados a ellos (psoriasis, parodontitis, artritis, alergias, inflamaciones). La invención posibilita una fácil aplicabilidad de los inhibidores en altas concentraciones locales.

Mediante la baja carga sistémica con los efectores correspondientes se evita una influencia del sistema de la incretina así como de la respuesta inmunitaria sistémica.

Ejemplos de realización

Ejemplo 1

Acción de glutamiltiazolidinas modificadas en las cadenas laterales como inhibidores de la DP IV que pueden transportarse difícilmente

Se sintetizaron glutamiltiazolidinas modificadas en las cadenas laterales de la estructura H-Glu(X)-Thia, usándose como X polietilenglicol o oligómeros de glicina de diferentes longitudes de cadena (descripción de la síntesis véase el método A). A partir de estos derivados, se analizaron las propiedades de enlace en y la transportabilidad mediante los transportadores peptídicos PepT1 así como se determinaron los valores de K_i frente a DP IV (tabla 1).

Sorprendentemente pudo comprobarse que las modificaciones en las cadenas laterales modifican sólo a pequeña escala las propiedades de enlace en el compuesto. Por el contrario, la transportabilidad de los inhibidores mediante los transportadores peptídico se reduce drásticamente mediante la modificación en las cadenas laterales.

Por ello, estos inhibidores de la DP IV son extraordinariamente adecuados, para conseguir una inhibición (tópica) limitada de manera local de la DP IV en el organismo.

TABLA 1

Transportabilidad y constantes de inhibidor de los inhibidores de la DP IV seleccionados

Compuesto aminoácido tiazolidida	CE50 (mM)¹	I_{max} (nA)²	K_i (Mol/l)³
H-Ile-Thia	0,98	25 ± 8	1,3e-7 ± 11,1%
Compuesto Aminoácido tiazolidida	CE50 (mM)¹	I_{max} (nA)²	K_i (Mol/l)³
H-Glu-Thia	1,1	35 ± 13	6,1e-7 ± 11,4%
Glutanziltiazolidina con cadenas laterales modificadas			
H-Glu(NHOH)-Thia	3,18	42 ± 11	1,7e-6 ± 8,6%
H-Glu(Gly₃)-Thia	8,54	n.d. ⁴	1,92e-7 ± 8,4%
H-Glu(Gly₅)-Thia	>10	n.d. ⁴	9,93e-8 ± 11,4%
H-Glu(PEG)-Thia	>10	n.d. ⁴	3,11e-6 ± 9,8%
¹ Concentraciones eficaces de los compuestos, que inhiben al 50% el enlace de ³ H-D-Phe-Ala (80 mM) de células de <i>P. pastoris</i> que expresan PepT1 (valor de CE50) ² Comportamiento de transporte de oocitos que expresan PepT1 de <i>X. laevis</i> por medio de un método de circuito de tensión de dos electrodos, I = corriente de entrada generada mediante el transporte ³ Constantes de inhibición para la inhibición competitiva de la DP IV renal purificada mediante los compuestos de los ejemplos ⁴ No determinable.			

Ejemplo 2

Efecto de inhibidores de la DP IV aplicados por vía oral sobre la actividad de la DP IV del suero

Se analizó la inhibición de la DP IV plasmática (acción sistémica) tras la aplicación oral de inhibidores de la DP IV modificados en las cadenas laterales (5 µM/300 mg de rata) en comparación con inhibidores no modificados en ratas Wistar sanas.

ES 2 282 130 T3

Aunque los inhibidores tienen aproximadamente los mismos valores de K_i frente a DP IV (tabla 1), la DP IV plasmática se inhibe de manera clara más lentamente y en total considerablemente menos mediante los inhibidores modificados en las cadenas laterales novedosos. Es decir, que estos inhibidores se absorben de manera claramente peor o prácticamente nada en el intestino. Especialmente en el caso de la Glu(Gly)₅-Thia no es detectable ninguna acción sistémica del los principio activo aplicado por vía oral.

Por ello estos inhibidores pueden funcionar como estructura guía para la síntesis de inhibidores novedosos de la DP IV que pueden aplicarse por vía tópica sin acción sistémica.

Ejemplo 3

Síntesis de inhibidores de la DP IV modificados en las cadenas laterales

3.1 Síntesis de Boc-Glu-Thia

Reacción de Boc-Glu(OMe)-OH con Thia*HCl según el método B (métodos véase el apartado 3.4), saponificación de Boc-Glu(OMe)-Thia según el método G.

TABLA 2

Datos analíticos de Boc-Glu-Thia

Compuesto	Rendimiento del método de síntesis M_r de fórmula total	EM [M+H] ⁺ DC: Rf /sistema Fp	[α] ²⁰ D. Concentración de disolvente	Análisis elemental (calculado /encontrado)	HPCL R _t [min] /sistema
Boc-Glu-Thia	C ¹³ H ²² N ² O ⁵ S 318,38 B + G 62%	319,5 0,52 / A ¹ 0,42 /B ¹ 115- 118°C	-3,1 c = 1 Metanol	C: 49,04/48,89 H: 6,96/6,82 N: 8,80/8,59	13,93 / A2
¹ Cromatografía de capa fina Sistema A: cloroformo/metanol 90:10 Sistema B: benceno/acetona/ácido acético 25:10:0,5 Sistema C: n-butanol/EE/ácido acético/H ₂ O 1:1:1:1 ² Condiciones de separación de HPLC Columna: Nucleosil C-18, 7 μ , 250 mm x 21 mm Eluyente: Isocrático, ACN al 40%/agua/TFA al 0,1% Flujo: 6 ml/min λ = 220 nm					

3.2 Boc-glutamiltiazolidina modificada en las cadenas laterales

Se modificó Boc-Glu-Thia en la función de ácido γ -carboxílico mediante la introducción de diferentes restos más grandes. Se acoplaron estos restos a través de su grupo amino mediante la formación de un enlace amida en la función del ácido γ -carboxílico. A este respecto, según el resto se utilizaron diferentes procedimientos de acoplamiento.

ES 2 282 130 T3

Se unieron los siguientes componentes amino a Boc-Glu-Thia con los métodos indicados:

Componente amino	Método de acoplamiento (véase el apartado 3.4)	Rendimiento
Polietilenglicolamina ($M_r \cong 8000$)	C	93%
H-Gly-Gly-Gly-OH	D + E	49%
H-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-OH	D + E	86%

La purificación del producto de reacción retirado en 2 se encuentra dentro de la descripción de la síntesis general.

Boc-Glu(Gly₅)-Thia

El producto precipita ya en la mezcla básica con agitación durante la noche, se separa por filtración a continuación y se lava con HCl 0,1 n y agua abundante. Después de esto se seca sobre P_4O_{10} a vacío.

Boc-Glu(PEG)-Thia

De manera diferente de las especificaciones generales, se disuelven las sustancias de partida de la síntesis en un exceso de 500 veces en DMF. Tras el final de la reacción, se elimina completamente el DMF a vacío y se disuelve el residuo en mucho metanol. Tras cubrir con una capa de éter, precipita el producto junto con PEG que no ha reaccionado. La purificación fina tuvo lugar mediante la separación por HPLC preparativa en una columna de filtración en gel (Pharmazia, Sephadex G-25, 90 μ m, 260 mm -100 mm). Condiciones de separación: eluyente: agua, flujo: 5 ml/min, $\lambda = 220$ nm.

TABLA 3

Datos de la síntesis de Boc-glutamiltiazolidina modificada en las cadenas laterales

Compuesto	Rendimiento o M_r de la fórmula total	EM $[M+H]^+DC/R_f$ / sistema F_p	$[\alpha]_{20D}$, concentración del disolvente	Análisis elemental (calculado / encontrado) %	HPLC R_t [min] / sistema
-----------	---	------------------------------------	---	---	----------------------------

ES 2 282 130 T3

Boc-Glu (Gly ₃)- Thia	C ₁₉ H ₃₁ N ₅ O ₈ S 489,54 49%	490,5		C:46,62 H:6,38 N:14,31	
Boc-Glu (Gly ₅)- Thia	C ₂₃ H ₃₇ N ₇ O ₁₀ S 603,64 86%	604,5 0,09/ C descomposici ón a partir de 202°C	n.d.	C:45,76/ 5,60 H:6,18/6 ,11 N: 16,24/16 ,5 6	11,9 3 / A2
Boc-Glu (PEG)- Thia	93%	≈8000 (centro de gravidad de la masa) 52- 53°C	n.d.	n.d.	n.d. .
² Condiciones de separación por HPLC Columna: Nucleosil C-18, 7 μ, 250 mm x 21 mm Diluyente: Isocrático, ACN al 40%/agua/TFA al 0,1% Flujo: 6 ml/min. λ= 220nm n.d.: no determinable					

3.3 Glutamiltiazolidina modificada en las cadenas laterales

Se separaron los grupos protectores Boc N terminales según el método F de los compuestos descritos en la tabla 3. Se purificaron las sustancias modificadas con derivados de Gly mediante separación por HPLC preparativa, y se encuentran como trifluoroacetato. Se purificó H-glu(PEG)-Thia en una columna de filtración en gel como el precursor protegido Boc.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 282 130 T3

TABLA 4

Datos de síntesis de la glutamiltiazolidina modificada en las cadenas laterales

Compuest o	Rendimi ento M _r de la fórmula total	EM [M+H] ⁺ +DC/R f/ sistema F _p	[α] ²⁰ D, concentrac ión del disolvente	Análisi s element al (calcu- lado / encon- trado) %	HPLC R _t [min]/ sistem a
H-Glu (Gly3)- Thia *TFA	C ₁₆ H ₂₄ N ₅ O 8SF 3503,45 94%	503,45 0,3291- 94°C / C	+4,1 c = 1 Metanol	C:38,17 /37,56 H:4,80/ 4,78 N: 13,91/1 3,4 3	7,84/C °
H-Glu (Gly5)- Thia *TFA	C ₂₀ H ₃₀ N ₇ O 10SF 3617,55 98%	617,55 0,25105- 107°C / C	n.d.	C:38,90 /38,82 H:4,90/ 4,79 N: 15,88/1 5,3 9	8,22 / C ³
H-Glu (PEG)- Thia *HCl	92%	»8000 (Centro de gravedad de la masa)	n. d.	n. d.	n. d.
³ Condiciones de separación por HPLC Columna: Nucleosil C-18, 7 μ, 250 mm x 21 mm Eluyente: ACN/Agua/TFA al 0,1% Gradiente: ACN al 20% → ACN al 90% en 30 min Flujo: 6 ml/min λ = 220 nm n.d. - no determinado o no determinable					

3.4 Especificaciones de síntesis general

Método A

5 *Unión del enlace peptídico por medio de métodos de mezclado anhidro con CAIBE como reactivo de activación*

Se disuelven 10 mmol de péptido o aminoácido protegido en el N terminal en 20 ml de THF puro. Se enfría la disolución se enfría hasta $-15^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Sucesivamente se añaden con agitación 10 mmol de N-MM y 10 mmol de éster isobutílico del ácido clorofórmico, observándose rigurosamente el mantenimiento del intervalo de temperatura indicado. Tras aproximadamente 6 minutos se añaden 10 mmol del componente amino. Si en el caso del componente amino se trata de una sal, entonces se mezcla posteriormente la mezcla básica de reacción con 10 mmol de N-MM adicionales. Después se agita la mezcla de reacción durante 2 h en frío y durante la noche a TA.

Se hace girar la mezcla básica de reacción, se absorbe en EE, se lava con una disolución de KH_2SO_4 al 5%, una disolución de NaHCO_3 saturada y una disolución de NaCl saturada y se seca sobre NaSO_4 . Tras la eliminación del disolvente a vacío, se recrystaliza el compuesto con EE/pentano.

Método B

20 *Unión del enlace peptídico por medio de métodos de mezclado anhidro con cloruro de ácido pivalínico como reactivo de la activación*

Se disuelven 10 mmol de péptido o aminoácido protegido en el N terminal, en 20 ml de THF puro. Se enfría la disolución hasta 0°C . Se añaden con agitación uno tras otro 10 mmol de N-MM y 10 mmol del cloruro del ácido pivalínico, observándose rigurosamente el mantenimiento del intervalo de temperatura indicado. Tras aproximadamente 6 min., se enfría la mezcla básica hasta -15°C y se añaden 10 mmol del componente amino tras conseguir la temperatura baja. Si en el caso del componente amino se trata de una sal, entonces se mezcla posteriormente la mezcla básica de reacción con 10 mmol de N-MM adicionales. Después se agita la mezcla de reacción durante 2 h en frío y durante la noche a TA. El reacondicionamiento adicional tiene lugar tal como en el método A.

30

Método C

Unión del enlace peptídico con TBTU como reactivo de activación

Se disuelven 10 mmol de péptido o aminoácido protegido en el N terminal y 10 mmol de componente amino protegido en el C terminal en 20 ml de DMF puro. Se enfría la disolución hasta 0°C . Se añaden uno tras otro con agitación 10 mmol de DIPEA y 10 mmol de TBTU. Se agita la mezcla básica durante 1 hora a 0°C y posteriormente durante la noche a TA. Se elimina completamente el DMF a vacío y se reacondiciona el producto tal como se describe en el método A.

40

Método D

Preparación de un éster activo (éster de N-hidroxisuccinimida)

Se disuelven 10 mmol de péptido o aminoácido protegido en N terminal y 10 mmol de N-hidroxisuccinimida en 20 ml de THF puro. La disolución se enfría hasta 0°C , y se añaden con agitación 10 mmol de dicitlohexilcarbodiimida. Se agita la mezcla básica de reacción durante 2 h adicionales a 0°C y posteriormente a TA durante la noche. Se separa por filtración la N,N'-dicitlohexilurea producida, se elimina el disolvente a vacío y se recrystaliza el producto con EE/pentano que permanece.

50

Método E

Unión del enlace amida con el éster de N-hidroxisuccinimida

Se colocan previamente 10 mmol de los componentes amino no protegidos en el C terminal en una disolución de NaHCO_3 (20 mmol en 20 ml de agua). Se le añade gota a gota a esta disolución a TA con agitación lenta, 10 mmol del éster de N-hidroxisuccinimida protegido en el N terminal disuelto en 10 ml de dioxano. Se agita durante la noche adicionalmente la mezcla básica de la reacción y posteriormente se elimina el disolvente a vacío.

El reacondicionamiento adicional tiene lugar tal como en el método A.

Método F

Separación del grupo protector Boc

65

Se mezcla 1 mmol de péptido, aminoácido tiazolidina o pirrolidina protegido con Boc, con 3 ml de ácido acético/HCl 1,1 n (método F1) o 3 ml de dioxano/HCl 1,1 n (método F2) o 3 ml de TFA al 50% en DCM (método F3). Se observa la separación a TA por medio de DC. Tras la terminación de la reacción (aproximadamente 2 h) se precipita

el compuesto como clorhidrato con dietil éter puro, se extrae y se seca sobre P_4O_{10} a vacío. Se recristaliza o se vuelve a precipitar el producto en metanol/éter.

Método G

Saponificación

Se disuelve 1 mmol de éster metílico de péptido en 10 ml de acetona y 1 ml de disolución de NaOH 0,1 M y se agita a TA. Se observa el desarrollo de la saponificación por medio de DC. Tras la terminación de la reacción se elimina la acetona a vacío. Se acidifica la solución acuosa que permanece con una disolución de KH_2SO_4 concentrada hasta alcanzar un valor de pH de 2-3. A continuación se extrae el producto múltiples veces con EE y se lava las fracciones del éster del ácido acético combinadas con disolución de NaCl saturada, se seca sobre $NaSO_4$ y se elimina el disolvente a vacío. La cristalización tiene lugar con EE/pentano.

Figura 1

Se representa el desarrollo temporal de la inhibición porcentual de la actividad de la DP IV en plasma tras la aplicación oral de 5 μ mol de inhibidor por 300 g de rata (n = 2).

Bibliografía

Ansorge, S., Schön, E., y Kunz, D. (1991). Membrane-bound peptidases of lymphocytes: functional implications. *Biomed. Biochim. Acta* 50, 799-807.

Ansorge, S., Bühling, F., Hoffmann, T., Kähne, T., Neubert, K., y Reinhold, D. (1995). *Dipeptidylpeptidase IV (CD26) in metabolism and the immune response* (Fleischer, B., Ed.). Springer-Verlag, Heidelberg. 163-184.

Augustyns, K., Bal, G., Thonus, G., Belyaev, A., Zhang, X. M., Bollaert, W., Lambeir, A. M., Durinx, C., Goossens, F., y Haemers, A. (1999). The unique properties of dipeptidylpeptidase IV (DPP IV/CD26) and the therapeutic potential of DPP IV inhibitors. *Curr Medicina Chem* 6, 311-327.

Buntrock, P., Neubert, K., Koh1, A., Moch, C., Born, I., Demuth, H.-U., y Barth, A. (1988). Stimulation and inhibition of wound healing process using short-chain peptides. *Biol. Zent. bl.* 107, 87-92.

Demuth, H.-U., Heins, J., On the catalytic Mechanism of Dipeptidil peptidasa IV. in *Dipeptidil peptidasa IV*, Fleischer, Ed., R.G.Landes, Biomedical Publishers, Georgetown, 1, 1995.

Demuth, H.-U., McIntosh, C. H. S., Rosche, F., Pauly, R. P., Pederson, R. A., y Schmidt, J. Verfahren zur Senkung des Blutglukosespiegels in Säugern. DE 196 16 486.9.

Fujita, K., Hagihara, M., Nagatsu, T., Iwata, H., y Miura, T. (1992). The activity of dipeptidil peptidasa II and dipeptidil peptidasa IV in mice immunized with type II collagen. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 48, 227-234.

Gomez, S., Gluschankof, P., Lepage, A., y Cohen, P. (1988). Relationship between endo-and exopeptidases in a processing enzyme system: activation of an endoprotease by the aminopeptidase B-like activity in somatostatin-28 convertase. *Proc Natl Acad Sci USA* 85, 5468-5472.

Hegen, M., Niedobitek, G., Klein, C.E., Stein, H., y Fleischer, B. (1990). The T cell triggering molecule Tp103 is associated with dipeptidyl aminopeptidase IV activity. *J. Immunol.* 144, 2908-2914.

Hegen, M., Mittrücker, H.-W., Hug, R., Demuth, H.U., Neubert, K., Barth, A., y Fleischer, B. (1993). Enzymatic activity of CD26 (dipeptidylpeptidase IV) is not required for its signalling function in T cells. *Immunobiol.* 189, 483-493.

Ishiura, S., Tsukahara, T., Tabira, T., y Sugita, H. (1989). Putative N-terminal splitting enzyme of amyloid A4 peptides is the multicatalytic proteinase, ingensin, which is widely distributed in mammalian cells. *FEBS Lett* 257, 388-392.

Kameoka, J., Sato, T., Torimoto, Y., Sugita, K., Soiffer, R.J., Schlossman, S.F., Ritz, J., y Morimoto, C. (1995). Differential CD26-mediated activation of the CD3 and CD2 pathways after CD6-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 85, 1132-1137.

Kähne, T., Neubert, K., y Ansorge, S. (1995). Enzymatic activity of DPIV/CD26 is involved in PMA-induced hyperphosphorylation of $p56^{lck}$. *Immunol. Lett.* 46, 189-193.

Kaspari, A., Diefenthal, T., Grosche, G., Schierhorn, A., Demuth, H.-U., Substrates containing phosphorylated residues adjacent to proline decrease cleavage by proline-specific peptidases, *Protein Struct Mol Enzym*, 147, 1996.

- Kessler, H.** (1982). Konformation und biologische Wirkung von zyklischen Peptiden. *Angew. Chem.* 94, 509.
- Kirschke, H., Barrett, A.J., y Rawlings, N.D.** (1995). Proteinases 1: lysosomal cysteine proteinases. *Protein Profile* 2, 1581-1643.
- Kohl, A., Volk, H.D., Diezel, W., Buntrock, P., y Diamantstein, T.** (1989). The dipeptide Lys-Pro restores the diminished wound healing following treatment with anti-T-helper cell monoclonal antibody. *Int. J. Immunopharmacol.* 11, 237-240.
- Kohl, A., Volk, H.D., Buntrock, P., Kohl, G., Diamantstein, T., y von Baehr, R.** (1991). The role of dipeptidyl-peptidase IV positive T cells in wound healing and angiogenesis. *Agents Actions* 32, 125-127.
- Kräusslich, H.-G. and Wimmer, E.** (1987). Viral Proteinases. *Ann. Rev. Biochem.* 57, 701.
- Kubota, T., Flentke, G.R., Bachovchin, W.W., y Stollar, B.D.** (1992). Involvement of dipeptidyl peptidase IV in an *in vivo* immune response. *Clin. Exp. Immunol.* 89, 192-197.
- Küllertz, G. y Boigk, J.** (1986). Dipeptidyl peptidase IV activity in the serum and synovia of patients with rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol* 45, 52-56.
- Levy, M.T., McCaughan, G.W., Abbott, C.A., Park, J.E., Cunningham, A.M., Müller, E., Rettig, W.J., Gorell, M.D.,** Fibroblast Activation Protein: A Cell Surface Dipeptidyl peptidase and Gelatinase Expressed by Stellate Cells at the Tissue Remodelling Interface in Human Cirrhosis *Hepatology*, 29, 1999, 1768-1778.
- Nelson, P.J. y Krensky, A.M.** (1998). Chemokines, lymphocytes and viruses: what goes around, comes around. *Curr Opin Immunol* 10, 265-270.
- Niedermeyer, J., Enenkel, B., Park, J. E., Lenter, M., Rettig, W. J., Damm, K., y Schnapp, A.** (1998). Mouse fibroblast-activation protein - Conserved Fap gene organization and biochemical function as a serine protease. *Eur J Biochem* 254, 650-654.
- Novelli, M., Savoia, P., Fierro, M. T., Verrone, A., Quaglino, P., y Bernengo, M.G.** (1996). Keratinocytes express dipeptidyl-peptidase IV (CD26) in benign and malignant skin diseases. *Br J Dermatol* 134, 1052-1056.
- Pauly, R. P., Demuth, H. U., Rosche, F., Schmidt, J., White, H. A., Lynn, F., McIntosh, C. H. S., y Pederson, R. A.** (1999). Improved glucose tolerance in rats treated with the dipeptidyl peptidase IV (CD26) inhibitor ile-thiazolidide. *Metabolism* 48, 385-389.
- Pauly, R. P., Rosche, F., Wermann, M., McIntosh, C. H. S., Pederson, R. A., y Demuth, H. U.** (1996). Investigation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide-(1-42) and glucagon-like peptide-1-(7-36) degradation *in vitro* by dipeptidyl peptidase IV using matrixassisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry - A novel kinetic approach. *J Biol Chem* 271, 23222-23229.
- Proost, P., De Meester, I., Schols, D., Struyf, S., Lambeir, A.M., Wuyts, A., Opdenakker, G., De Clercq, E., ScharpKS., y Van Damme, J.** (1998a). Amino-terminal truncation of chemokines by CD26/dipeptidyl-peptidase IV. Conversion of RANTES into a potent inhibitor of monocyte chemotaxis and HIV-1-infection. *J Biol Chem* 273, 7222-7227.
- Proost, P., Struyf, S., Schols, D., Durinx, C., Wuyts, A., Lenaerts, J.P., De Clercq, E., De Meester, I., y Van Damme, J.** (1998b). Processing by CD26/dipeptidyl-peptidase IV reduces the chemotactic and anti-HIV-1 activity of stromal-cell-derived factor-1alpha. *FEBS Lett* 432, 73-76.
- Proost, P., Struyf, S., Schols, D., Opdenakker, G., Sozzani, S., Allavena, P., Mantovani, A., Augustyns, K., Bal, G., Haemers, A., Lambeir, A.M., ScharpKS., Van Damme, J., y De Meester, I.** (1999). Truncation of macrophage-derived chemokine by CD26/ dipeptidylpeptidase IV beyond its predicted cleavage site affects chemotactic activity and CC chemokine receptor 4 interaction. *J Biol Chem* 274, 3988-3993.
- Raynaud, F., Bauvois, B., Gerbaud, P., y Evain Brion, D.** (1992). Characterization of specific proteases associated with the surface of human skin fibroblasts, and their modulation in pathology. *J. Cell. Physiol.* 151, 378-385.
- Reinhold, D., Bank, U., Buhling, F., Tager, M., Born, I., Faust, J., Neubert, K., y Ansorge, S.** (1997). Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV (DP IV, CD26) induces secretion of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) in stimulated mouse splenocytes and thymocytes. *Immunol Lett* 58, 29-35.
- Reinhold, D., Hemmer, B., Gran, B., Born, I., Faust, J., Neubert, K., McFarland, H. F., Martin, R., y Ansorge, S.** (1998). Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV/CD26 suppress activation of human MBP-specific CD4+T cell clones. *J Neuroimmunol* 87, 203-209.

Reinhold D., Hemmer, B., Steinbrecher, A., Born, I., Faust, J., Neubert, K., Brocke, S., Martin, R., Ansorge, S., Dipeptidil peptidasa IV (CD 26): Role in T cell activation and autoimmune disease. *Biol. Chem.* 379, S 69, 1998.

Scholzen, T., Armstrong, C.A., Bunnnett, N.W., Luger, T.A., Olerud, J.E., y Ansel, J.C. (1998). Neuropeptides in the skin: interactions between the neuroendocrine and the skin immune systems. *Exp Dermatol* 7, 81-96.

Shioda, T., Kato, H., Ohnishi, Y., Tashiro, K., Ikegawa, M., Nakayama, E.E., Hu, H., Kato, A., Sakai, Y., Liu, H., Honjo, T., Nomoto, A., Iwamoto, A., Morimoto, C., y Nagai, Y. (1998). Anti-HIV-1 and chemotactic activities of human stromal cell-derived factor 1alpha (SDF-1alpha) and SDF-1beta are abolished by CD26/dipeptidil peptidasa IV-mediated cleavage. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 6331-6336.

Tanaka, T., Kameoka, J., Yaron, A., Schlossman, S.F., y Morimoto, C. (1993). The costimulatory activity of the CD26 antigen requires dipeptidil peptidasa IV enzymatic activity. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 90, 4586-4590.

Tanaka, S., Murakami, T., Horikawa, H., Sugiura, M., Kawashima, K., y Sugita, T. (1997). Suppression of arthritis by the inhibitors of dipeptidil peptidasa IV. *Int J Immunopharmacol* 19, 15-24.

Tanaka, S., Murakami, T., Nonaka, N., Ohnuki, T., Yamada, M., y Sugita, T. (1998). Antiarthritic effects of the novel dipeptidil peptidasa IV inhibitors TMC-2A and TSL-225. *Immunopharmacology* 40, 21-26.

Vanhoof, G., Goossens, F., De Meester I, Hendriks, D., y Scharpe, S. (1995). Proline motifs in peptides and their biological processing. *FASEB J.* 9, 736-744.

Wallengren, J. (1997). Vasoactive peptides in the skin. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2, 49-55.

Yaron, A. y Naider, F. (1993). Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 28(1), 31-38.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula general

5



10

siendo A un aminoácido con al menos un grupo funcional en la cadena lateral,

siendo B un compuesto químico, que está unido covalentemente a al menos un grupo funcional de la cadena lateral de A, concretamente

15

- oligopéptidos con una longitud de cadena de hasta 20 aminoácidos, excepto homopolímeros de glicina de hasta 6 monómeros de glicina o

- polietilenglicoles con peso molecular de hasta 20000 g/mol,

20

siendo C un grupo tiazolidina, pirrolidina, cianopirrolidina, hidroxiprolina, deshidroprolina o piperidina, que forma con A un enlace amida.

2. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque A es un α -aminoácido.

25

3. Compuesto según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque A es un α -aminoácido natural.

4. Compuesto según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el aminoácido es treonina, tirosina, serina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína.

30

5. Compuesto según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque los oligopéptidos presentan longitudes de cadena de desde 3 hasta 15 aminoácidos.

6. Compuesto según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque los oligopéptidos son homopolímeros, copolímeros o copolímeros en bloque.

35

7. Compuesto según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque los polietilenglicoles presentan pesos moleculares de al menos 250 g/mol.

40

8. Compuesto según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque C es un grupo tiazolidina, pirrolidina o cianopirrolidina.

9. Composición farmacéutica, que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones anteriores dado el caso en combinación con vehículos o adyuvantes en sí habituales.

45

10. Composición cosmética, que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 8 dado el caso en combinación con vehículos o adyuvantes en sí habituales.

11. Uso de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 8 para la producción de un fármaco para influir por vía tópica la actividad de la dipeptidil-peptidasa IV o de las enzimas análogas.

50

12. Uso de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 8 para la producción de un fármaco para la profilaxis o tratamiento de enfermedades de la piel o de la mucosa, enfermedades autoinmunitarias e inflamaciones.

55

13. Uso de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 8 para la producción de un fármaco para la profilaxis o tratamiento de inflamaciones, psoriasis, alergias, artritis, tumores o enfermedades autoinmunitarias.

14. Uso de al menos un compuesto o composición farmacéutica o cosmética según una de las reivindicaciones 1 a 10, en pomada, crema, producto cosmético, parche, venda, gotas, pulverizador, inhalador, implante o disolución para inyección.

60

65

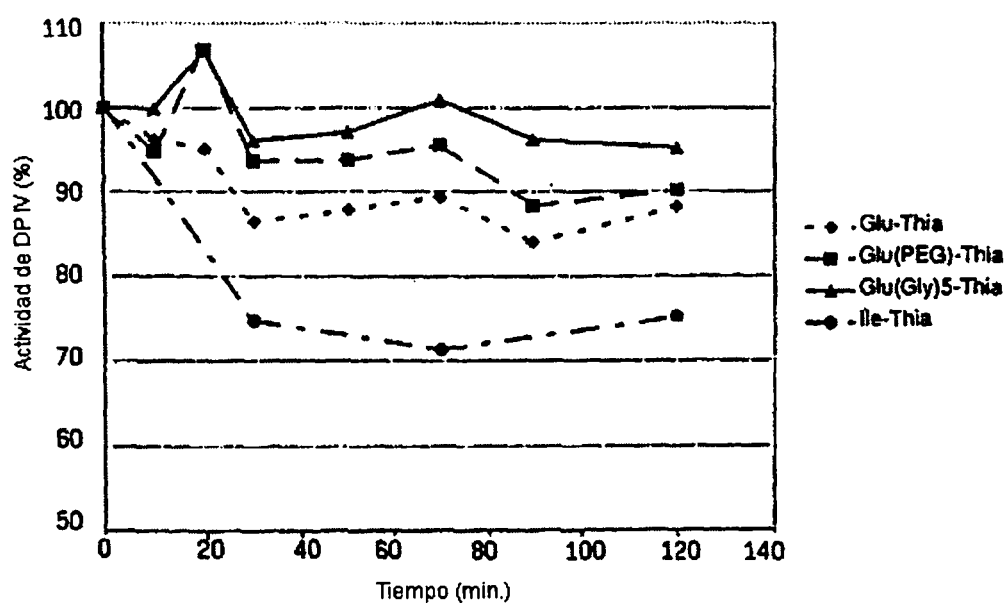


Fig. 1: Efecto sistémico de inhibidores de DP IV aplicados por vía oral a ratas Wistar sanas