



19



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 322 882**

21 Número de solicitud: 200602720

51 Int. Cl.:

C07K 14/705 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **25.10.2006**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **30.06.2009**

Fecha de la concesión: **08.04.2010**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **22.04.2010**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente: **22.04.2010**

73 Titular/es: **LIPOTEC, S.A.**
c/ Isaac Peral, 15
Polígono Industrial Camí Ral
08550 Gavà, Barcelona, ES

72 Inventor/es: **Carreño Serraima, Cristina;**
Ponsati Obiols, Berta;
Van den Nest, Wim;
Fernández Carneado, Jimena;
Ferrer Montiel, Antonio;
Cebrián Puche, Joan y
Almiñana Doménech, Nuria

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

54 Título: **Péptidos inhibidores de la excitosis neuronal.**

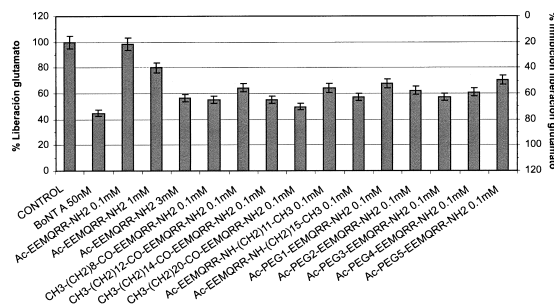
57 Resumen:

Péptidos inhibidores de la excitosis neuronal.
Péptidos de fórmula general (I):



capaces de regular la excitosis neuronal, sus estereoisómeros y mezclas de los mismos, racémicas o no, y las sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde AA es una secuencia de 3 a 40 aminoácidos adyacentes contenida en la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP 25, R₁ se selecciona del grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo; y R₂ se selecciona del grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, sustituidos o no con grupos alifáticos o cíclicos, con la condición de que cuando R₁ es H o acetilo, R₂ no es amino, hidroxilo ni tiol no sustituidos. Un método de obtención, composiciones cosméticas o farmacéuticas que los contienen y su uso para tratar aquellas condiciones que requieran la regulación de la excitosis neuronal, preferentemente para tratar la piel.

Inhibición de la excitosis neuronal



ES 2 322 882 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Péptidos inhibidores de la exocitosis neuronal.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a péptidos capaces de regular la exocitosis neuronal y a composiciones cosméticas o farmacéuticas que contienen dichos péptidos de utilidad en el tratamiento de aquellas condiciones que requieran una regulación de la exocitosis neuronal, como por ejemplo la espasticidad de los músculos, la asimetría facial y/o las arrugas faciales, preferentemente las arrugas de expresión.

Antecedentes de la invención

Uno de los signos más visibles del envejecimiento del ser humano son los cambios que experimenta la piel: sequedad, aparición de manchas, flaccidez y arrugas. Estos efectos pueden ser causados por agentes externos como la exposición constante al sol, la contaminación atmosférica o el contacto con agentes químicos presentes en, por ejemplo, productos de limpieza, pero también son consecuencia de cambios fisiológicos, bioquímicos e histológicos intrínsecos del organismo humano, debidos a la disminución de la síntesis de proteínas como el colágeno o la elastina, a un aumento de la proteólisis, y a una rotura general de la barrera de la piel, del tejido conectivo y de la cohesión.

Se han descrito distintos principios activos para la prevención o disminución de los síntomas del envejecimiento, como por ejemplo retinoides, hidroxiácidos, flavonoides o derivados de vitamina C y E. Dichos compuestos actúan normalmente mejorando la hidratación de la piel, aumentando la renovación celular o previniendo la degeneración de los tejidos que forman la piel; sin embargo, su eficacia en la prevención o tratamiento de las arrugas faciales motivadas por la contracción de los músculos es limitada. La base o mecanismo de formación de las arrugas faciales de expresión es una tensión de los músculos de la epidermis que arrastran la piel hacia el interior. Esta tensión muscular es el resultado de una hiperactividad de los nervios que enervan los músculos faciales. La hiperactividad nerviosa se caracteriza por una liberación incontrolada y excesiva de neurotransmisores que excitan las fibras musculares. Por ello, las moléculas que regulen la exocitosis neuronal contribuyen a relajar la tensión muscular y, consecuentemente, a eliminar las arrugas faciales.

Existe, pues, la necesidad de desarrollar nuevos principios activos con eficacia probada para la preparación de una composición cosmética o farmacéutica para regular la exocitosis neuronal y, por tanto, para tratar la espasticidad de los músculos y reducir y/o eliminar la asimetría facial y/o las arrugas faciales, especialmente las arrugas de expresión.

Se entiende por arrugas de expresión aquellas que son consecuencia del estrés que ejercen las contracciones de los músculos faciales responsables de producir las expresiones del rostro sobre la piel del rostro. Las arrugas de expresión se suelen localizar en la frente, en el espacio entre las cejas, alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos. Dependiendo de la forma del rostro, la frecuencia de las expresiones y la existencia de tics (movimientos convulsivos, que se repiten con frecuencia, producidos por la contracción involuntaria de uno o varios músculos, en este caso del rostro) las arrugas de expresión pueden aparecer incluso en la adolescencia. Los factores externos como la exposición al sol acentúan su profundidad y su visibilidad.

Con el objetivo de reducir y/o eliminar las arrugas de expresión se han empleado ampliamente las toxinas botulínicas, en especial el serotipo A (BOTOX[®] Cosmetic, Allergan Inc.) [Carruthers J.D. y Carruthers J.A. (1992) "Treatment of glabellar frown lines with C. botulinum -A exotoxin" *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 18, 17-21; Mendez-Eastman S.K. (2003) "Botox: a review" *Plast. Surg. Nurs.* 23, 64-69]. El tratamiento terapéutico y cosmético con BOTOX[®] consiste en la inyección localizada de preparados farmacéuticos (complejo botulina A-hematoglutinina, 500 kDa) diluidos en las zonas donde se localiza la tensión muscular. Los efectos paralíticos de la toxina son reversibles con una duración media de 6 meses [Jankovic J. y Brin F.M. (1991) "Therapeutic uses of botulinum toxin" *New Engl. J. Med.* 324, 1186-1194; Jankovic J. (1994) "Botulinum toxin in movement disorders" *Curr. Opin. Neurol.* 6, 358-366]. El tratamiento, por tanto, requiere la inyección repetida de toxina botulínica. El problema principal de este tratamiento es la posibilidad de que se desencadene una reacción inmune contra el preparado farmacéutico debido a que por su tamaño molecular puede ser objeto de reconocimiento por el sistema inmunitario del paciente. La aparición de anticuerpos contra la toxina botulínica constituye un grave problema ya que contribuye a una clara pérdida de eficacia del tratamiento [Jankovic J. y Brin F.M. (1991) "Therapeutic uses of botulinum toxin" *New Engl. J. Med.* 324, 1186-1194; Jankovic J. (1994) "Botulinum toxin in movement disorders" *Curr. Opin. Neurol.* 6, 358-366; Jankovic J. y Brin M.F. (1997) "Botulinum toxin: historical perspective and potential new indications" *Muscle Nerve Suppl.* 6, S129-S145; Davis L.E. (1993) "Botulinum toxin-from poison to medicine" *West J. Med.* 128, 25-28; Hughes A.J. (1994) "Botulinum toxin in clinical practise" *Drugs* 48, 888-893; Hambleton P. (1992) "Clostridium botulinum toxins a general review of involvement in disease, structure, mode of action and preparation for clinical use" *J. Neurol.* 239, 16-20; Borodic G.E. y Pearce L.B. (1994) "New concepts in botulinum toxin therapy" *Drug Safety* 11, 145-152; Brin M.F., Blitzer A., Stewart C., Pine Z., Borg-Stein J., Miller J., Nagalapura N.S. y Rosenfeld D.B. (1993) "Disorders with excessive muscle contraction: Candidates for treatment with intramuscular botulinum toxin (BoTox[®])" *Botulinum and Tetanus Neurotoxins* (Ed. B.R. DasGupta), 559-576]. Esta pérdida de eficacia del tratamiento con BOTOX[®] conlleva la necesidad de aumentar la concentración del preparado en tratamientos posteriores, lo que a su vez produce una potenciación de la respuesta inmune. Como alternativa al tratamiento con toxina botulínica del serotipo A se ha barajado el uso de serotipos distintos de las toxinas botulínicas, tales como BoTox B, BoTox F y BoTox E. No obstante, la

aplicación de preparados farmacéuticos con serotipos distintos no puede considerarse una solución al problema puesto que, tarde o temprano, la reacción inmune se puede volver a producir. Además, el tratamiento con toxinas botulínicas es caro debido, principalmente, a la labilidad e inestabilidad de las preparaciones farmacéuticas que las contienen.

5 Existe, por tanto, una necesidad imperiosa de desarrollar moléculas que imiten los efectos paralíticos de las toxinas botulínicas pero que estén dotadas de estructuras moleculares mucho más sencillas y estables, que no induzcan reacciones inmunes, y cuyo coste de producción sea económico. Las moléculas de naturaleza peptídica cumplen estas propiedades.

10 A nivel molecular, las toxinas botulínicas son proteasas que degradan proteínas neuronales que están involucradas en el mecanismo de exocitosis activada por el ión calcio [Schiavo G., Rossetto O. y Montecucco C. (1996) "Bases Moleculares del tétanos y del botulismo" *Investigación y Ciencia* 234, 46-55; Montecucco C. y Schiavo G. (1994) "Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins" *Mol. Microbiol.* 13, 1-8; Schiavo G., Rossetto O., Benfenati F., Poulain B. y Montecucco, C. (1994) "Tetanus and botulinum neurotoxins are zinc proteases specific for components of the neuroexocytosis apparatus" *Ann. NY Acad. Sci.* 710, 65-75]. Por ejemplo, la toxina botulínica A, la más comúnmente utilizada en clínica y cosmética por sus aplicaciones en la eliminación de las arrugas faciales y de la asimetría facial, y para suavizar la sintomatología de enfermedades espasmódicas, trunca la proteína neuronal SNAP-25. Esta proteína SNAP-25 juega un papel clave en la neurosecreción puesto que está involucrada en la formación de un complejo proteico (conocido con el nombre de complejo SNARE o de fusión) que dirige y controla la liberación de la acetilcolina acumulada en vesículas. El núcleo de dicho complejo de fusión lo constituyen las proteínas SNAP-25 y sintaxina, localizadas en la membrana plasmática presináptica, y la proteína sinaptobrevina o VAMP, localizada en la membrana plasmática vesicular [Calakos N. y Scheller R.H. (1996) "Synaptic vesicle biogenesis, docking and fusion: a molecular description" *Physiol Rev.* 76, 1-29; Sutton R.B., Fasshauer D., Jahn R. y Brunger A.T. (1998) "Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4Å resolution" *Nature* 395, 347-353]. La función principal del complejo de fusión es aproximar y poner en contacto la vesícula cargada de neurotransmisor (acetilcolina) con la membrana plasmática presináptica [Calakos N. y Scheller R.H. (1996) "Synaptic vesicle biogenesis, docking and fusion: a molecular description" *Physiol Rev.* 76, 1-29; Sutton R.B., Fasshauer D., Jahn R. y Brunger A. T. (1998) "Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4Å resolution" *Nature* 395, 347-353]. De esta forma, en respuesta a una elevación de la concentración de calcio, se favorecerá la fusión de ambas membranas plasmáticas, produciendo así la liberación del neurotransmisor. Por tanto, dicho complejo proteico SNARE de atraque y fusión vesicular constituye una diana clave para controlar la neurosecreción. El truncamiento de cualquiera de las proteínas que forman el complejo de fusión previene su ensamblaje y, por tanto, inhibe la liberación vesicular y regula la exocitosis neuronal.

35 Es conocido en el estado de la técnica que determinados péptidos derivados de las secuencias de las proteínas que forman el complejo SNARE son capaces de inhibir la exocitosis neuronal, como por ejemplo los péptidos derivados de los dominios amino y carboxilo de la proteína SNAP-25 [Apland J.P., Biser J.A., Adler M., Ferrer-Montiel A. V., Montal M., Canaves J.M. y Filbert, M.G. (1999) "Peptides that mimic the carboxy-terminal domain of SNAP-25 block acetylcholine release at an aplysia synapse" *J. Appl Toxicol.* 19, Suppl 1: S23-S26; Mehta P. P., Batternger E. y Wilson M. (1996) "SNAP-25 and synaptotagmin involvement in the final Ca^{2+} -dependent triggering of neurotransmitter exocytosis" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 10471-10476; Ferrer-Montiel A.V., Gutiérrez L.M., Apland J.P., Canaves J.M., Gil A., Viniestra S., Biser J.A., Adler M. y Montal M. (1998) "The 26-mer peptide released from cleavage by botulinum neurotoxin E inhibits vesicle docking" *FEBS Lett.* 435, 84-88; Gutiérrez L.M., Canaves J.M., Ferrer-Montiel A.V., Reig J.A., Montal M. y Viniestra S. (1995) "A peptide that mimics the carboxy-terminal domain of SNAP-25 blocks Ca^{2+} -dependent exocytosis in chromaffin cells" *FEBS Lett.* 372, 39-43; Gutiérrez L.M., Viniestra S., Rueda J., Ferrer-Montiel A. V., Canaves J.M. y Montal M. (1997) "A peptide that mimics the C-terminal sequence of SNAP-25 inhibits secretory vesicle docking in chromaffin cells" *J. Biol. Chem.* 272, 2634-2639; Blanes-Mira C., Valera E., Fernández-Ballester G., Merino J.M., Viniestra S., Gutiérrez L.M., Pérez-Payá E. y Ferrer-Montiel A. (2004) "Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP-25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis" *J. Neurochem.* 88, 124-135], los péptidos derivados de la secuencia de aminoácidos de la sintaxina [Martin F., Salinas E., Vázquez J., Soria B. y Reig J.A. (1996) "Inhibition of insulin release by synthetic peptides show that the H3 region at the C-terminal domain of syntaxin-1 is crucial for Ca^{2+} -but not for guanosine 5'-[gamma-thio]thriphosphate-induced secretion" *Biochem. J.* 320, 201-205], de la sinaptobrevina [Cornille F., Deloye F., Fournie-Zaluski M.C., Roques B.P. y Poulain B. (1995) "Inhibition of neurotransmitter release by synthetic proline-rich peptides shows that the N-terminal domain of vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin is critical for neuro-exocytosis" *J. Biol. Chem.* 270, 16826-16830], de la sinaptotagmina [Mehta P.P., Batternger E. y Wilson M. (1996) "SNAP-25 and synaptotagmin involvement in the final Ca^{2+} -dependent triggering of neurotransmitter exocytosis" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 10471-10476] y de la proteína snapin [Ilardi J.M., Mochida S. y Sheng Z.H. (1999) "Snapin: A SNARE associated protein implicated in synaptic transmission" *Nat. Neurosci.* 2, 119-124]. Del mismo modo, se han descrito también péptidos sintéticos obtenidos por diseño racional o por rastreo de quimiotecas sintéticas que son capaces de interferir en la formación del complejo SNARE inhibiendo la exocitosis neuronal [Blanes-Mira C., Pastor M.T., Valera E., Fernández-Ballester G., Merino J.M., Gutiérrez L.M., Pérez-Payá E. y Ferrer-Montiel A. (2003) "Identification of SNARE complex modulators that inhibit exocytosis form an α -helix-constrained combinatorial library" *Biochem J.* 375, 159-166].

65 La aplicación industrial de este tipo de compuestos ha sido limitada. La industria cosmética ha realizado importantes esfuerzos para desarrollar compuestos que imiten la acción de las toxinas botulínicas con uso exclusivo en el tratamiento y prevención de la formación de las arrugas de expresión [Blanes-Mira C., Clemente J., Jodas G., Gil A.,

Fernández-Ballester G., Ponsati B., Gutiérrez L.M., Pérez-Payá E. y Ferrer-Montiel, A. (2002) "A synthetic hexapeptide (Argireline®) with anti-wrinkle activity" *Int. J. Cosmetic Res.* 24, 303-310]. En concreto, la patente EP1,180,524 de Lipotec, S.A. describe péptidos derivados del fragmento amino-terminal de la proteína SNAP-25 que poseen efecto antiarrugas, y la solicitud internacional WO97/34620 describe también péptidos derivados de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25, en concreto de su región carboxi-terminal, o de la sinaptobrevina o de la sintaxina capaces de inhibir la exocitosis neuronal.

Ninguna de las patentes descritas anteriormente se refiere a derivados modificados químicamente de manera irreversible de los péptidos derivados de la proteína SNAP-25 como agentes reguladores de la exocitosis neuronal. La patente EP1,180,524 describe potenciales modificaciones químicas reversibles de los péptidos del extremo amino-terminal de la proteína SNAP-25 con el fin de aumentar su biodisponibilidad y su facilidad de paso de la barrera hematoencefálica y del tejido epitelial, tales como la esterificación de las cadenas laterales de los residuos de aspártico y glutámico, que posteriormente van a ser degradados *in vivo* por esterasas intracelulares, recuperándose el péptido no modificado responsable de la actividad biológica. Sorprendentemente, el solicitante de la presente invención ha descubierto que modificaciones químicamente irreversibles de los extremos amino- y/o carboxi-terminal de dichos péptidos no sólo les confieren mayor resistencia a la degradación frente a proteasas intracelulares provocando una mayor duración de su efecto como reguladores de la exocitosis neuronal, sino que sorprendentemente son capaces de potenciar su eficacia *in vitro* de dos a treinta veces respecto a la del correspondiente péptido no modificado.

La modificación de proteínas con cadenas lipídicas está descrita como modificación irreversible cuando ésta se realiza sobre grupos amino presentes en sus secuencias, bien sea en su extremo amino-terminal, bien sea en las cadenas laterales de los residuos de lisina, mientras que cuando ésta se realiza sobre los grupos tiol de los residuos de cisteína se considera reversible, ya que el péptido o proteína modificados son hidrolizados *in vivo* por las correspondientes tioesterasas [Magee A.L. (1990) "Lipid modification of proteins and its relevance to protein targeting" *J. Cell Sci.* 97, 581-584; Mumby S.M. (1997) "Reversible palmitoylation of signaling proteins" *Curr. Opin. Cell Biol.* 9, 148-154]. En el estado de la técnica se encuentran descritos ejemplos de modificaciones irreversibles de péptidos con derivados de cadenas de ácidos grasos con el objetivo de mejorar su eficacia *in vivo*, aumentando su permeación a través de la piel [Lintner K. y Peschard O. (2000) "Biologically active peptides: from a laboratory bench curiosity to a functional skin care product" *Int. J. Cosmet. Sci.* 22, 207-218] o consiguiendo una mejor respuesta inmunológica para su desarrollo como potenciales vacunas [Gahely H., Choppin J., Bourgault I., Fischer E., Maillere B. y Guillet J.G. (2005) "HIV preventive vaccine research at the ANRS: the lipopeptide vaccine approach" *Therapie* 60, 243-248], así como para inducir un mayor efecto citotóxico bien sea en bacterias [Eisenstein B.I. (2004) "Lipopeptides, focusing on daptomycin, for the treatment of Gram-positive infections" *Expert Opin. Investig. Drugs* 13, 1159-1169] o en hongos [Avrahami D. y Shai Y. (2004) "A New Group of Antifungal and Antibacterial Lipopeptides Derived from Non-membrane Active Peptides Conjugated to Palmitic Acid" *J. Biol. Chem.* 279, 12277-12285]. Este tipo de modificaciones no siempre provoca un cambio en la eficacia *in vitro* de dichos péptidos; por ejemplo la palmitoilación del tripéptido GHK no modifica su capacidad de inducir la síntesis de colágeno en fibroblastos [Lintner K. y Peschard O. (2000) "Biologically active peptides: from a laboratory bench curiosity to a functional skin care product" *Int. J. Cosmet. Sci.* 22, 207-218], de modo que un experto en la materia en el momento de la presente invención no podría predecir si la modificación de un péptido con un grupo hidrocbonado aumentaría, disminuiría o dejaría inalterada su eficacia *in vitro* respecto a la del correspondiente péptido sin modificar.

Es también conocida en el estado de la técnica la modificación química irreversible de péptidos y proteínas mediante la incorporación covalente de unidades repetitivas de polietilenglicol, conocida como "PEGilación", básicamente con el fin de aumentar el tiempo de vida media *in vivo*, disminuir la toxicidad y reducir la inmunogenicidad y antigenicidad de los péptidos y proteínas [Savoca K. V., Abuchowski A., van Es T., Davis F.F. y Palczuk N.C. (1979) "Preparation of a non-immunogenic arginase by the covalent attachment of polyethylene glycol" *Biochim. Biophys. Acta* 578, 47-53; Hershfield M. S., Buckley R.H., Greenberg M.L., Melton A.L., Schiff R., Hatem C., Kurtzberg J., Markert M.L., Kobayashi R.H., Kobayashi A.L., et al. (1987) "Treatment of adenosine deaminase deficiency with polyethylene glycol-modified adenosine deaminase" *N. Engl. J. Med.* 316, 589-596; Katre N. V. (1990) "Immunogenicity of recombinant IL-2 modified by covalent attachment of polyethylene glycol" *J. Immunol.* 144, 209-213; Wang Q.C., Pai L.H., Debinski W., FitzGerald D.J. y Pastan I. (1993) "Polyethylene glycol-modified chimeric toxin composed of transforming growth factor α and Pseudomonas exotoxin" *Cancer Res.* 53, 4588-4594; Clark R., Olson K., Fuh G., Marian M., Mortensen D., Teshima G., Chang S., Chu H., Mukku V., Canova-Davis E., Somers T., Cronin M., Winkler M. y Wells J.A. (1996) "Long-acting growth hormones produced by conjugation with polyethylene glycol" *J. Biol. Chem.* 271, 21969-21977; He X.H., Shaw P.C. y Tam S.C. (1999) "Reducing the immunogenicity and improving the *in vivo* activity of trichosanthin by site-directed pegylation" *Life Sci.* 65, 355-368; Harris J.M. y Chess R.B. (2003) "Effect of PEGylation on pharmaceuticals" *Nat. Rev. Drug Discov.* 2, 214-221]. Los ejemplos existentes en el estado de la técnica describen modificaciones de los péptidos y proteínas con el objetivo de mejorar de sus propiedades farmacológicas de distribución y eliminación y así mejorar su actividad biológica *in vivo* sin alterar su actividad biológica *in vitro*, pero en ningún caso sugieren que la potencial PEGilación pueda incrementar la actividad biológica de la proteína *in vitro*, más bien al contrario, existen ejemplos descritos como el caso del interferón PEGilado en que la actividad *in vitro* se ve reducida comparándola con la del interferón nativo [Rajender Reddy K., Modi M.W. y Pedder S. (1992) "Use of peginterferon alfa-2a (40 KD) (Pegasys) for the treatment of hepatitis C" *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54 (4), 571-86].

Sorprendentemente, con la presente invención se demuestra que la modificación química de manera irreversible de secuencias peptídicas derivadas de la proteína SNAP-25 es capaz de aumentar la eficacia de dichas secuencias en

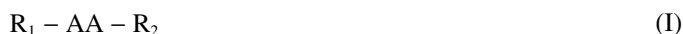
la inhibición de la exocitosis neuronal. No existe ningún indicio en el estado de la técnica que dichas modificaciones deban incrementar la eficacia inhibitoria de dichos péptidos, por lo que un experto en la materia no podría deducir la naturaleza de las modificaciones requeridas de los péptidos para potenciar su capacidad inhibitoria de la exocitosis neuronal.

Así pues, la presente invención proporciona una solución novedosa a las necesidades existentes que comprende el descubrimiento de unas secuencias peptídicas derivadas de la proteína SNAP-25 modificadas químicamente de manera irreversible capaces de inhibir la exocitosis neuronal de manera más eficaz y prolongada que los correspondientes péptidos no modificados ya conocidos en el estado de la técnica.

Descripción de la invención

La presente invención proporciona una solución sencilla, eficaz y sin riesgos para la regulación de la exocitosis neuronal, que comprende la aplicación en el cuerpo de un mamífero de una composición que contiene, al menos, un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos derivada de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 y está modificado químicamente de manera irreversible en sus extremos amino y/o carboxi-terminal.

Por lo tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a un péptido capaz de regular la exocitosis neuronal, según la fórmula general (I):



sus estereoisómeros y mezclas de los mismos, racémicas o no, y las sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde

AA es una secuencia de 3 a 40 aminoácidos adyacentes contenida en la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 1;

R_1 se selecciona del grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo;

y R_2 se selecciona del grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, sustituidos o no con grupos alifáticos o cíclicos; con la condición de que cuando R_1 es H o acetilo, R_2 no es amino, hidroxilo o tiol no sustituidos.

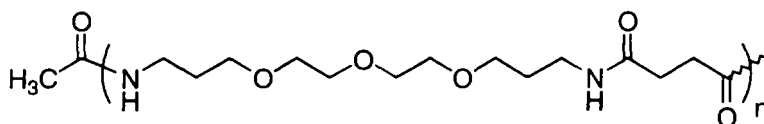
Las estructuras preferidas de los péptidos representados en la fórmula general (I) son aquellas donde

R_1 es H o acetilo o un grupo acilo de C_3 a C_{24} lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado o un polímero de polietilenglicol;

R_2 es amino o hidroxilo sustituidos opcionalmente con grupos alifáticos de C_1 a C_{24} lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados;

con la condición de que cuando R_1 es H o acetilo, R_2 no es amino ni hidroxilo no sustituidos.

Estructuras más preferidas son aquellas en que el polímero de polietilenglicol es



donde n puede variar de 1 a 100, y más preferentemente puede variar entre 1 y 5.

Adicionalmente, estructuras preferidas son aquellas donde R_1 es un grupo acilo de fórmula $CH_3-(CH_2)_m-CO-$, donde m puede variar entre 1 y 22.

Los péptidos de la presente invención pueden existir como estereoisómeros o mezclas de estereoisómeros; por ejemplo, los aminoácidos que los componen pueden tener configuración L-, D-, o ser racémicos independientemente uno de otro. Por tanto, es posible obtener mezclas isoméricas así como racémicas o mezclas diastereoméricas, o diastereómeros puros o enantiómeros, dependiendo del número de carbonos asimétricos y de qué isómeros o mezclas isoméricas estén presentes. Las estructuras preferidas de los péptidos de la invención son isómeros puros, es decir, enantiómeros o diastereómeros.

Dentro del contexto de la presente invención, el término "grupo alifático" se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado o insaturado, lineal o cíclico.

ES 2 322 882 B1

El término “grupo hidrocarbonado” se utiliza en la presente invención para abarcar, por ejemplo, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo.

5 El término “grupo alquilo” se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado lineal o ramificado, incluyendo, por ejemplo, metilo, etilo, isopropilo, isobutilo, *t*-butilo, heptilo, dodecilo, hexadecilo, octadecilo, amilo, 2-etilhexilo, 2-metilbutilo, 5-metilhexilo y similares.

10 El término “grupo alqueniilo” se refiere a un grupo hidrocarbonado no saturado, lineal o ramificado con uno o más enlaces doble carbono-carbono, tal como el grupo vinilo.

15 El término “grupo alquinilo” se refiere a un grupo hidrocarbonado no saturado, lineal o ramificado con uno o más enlaces triple carbono-carbono.

20 El término “grupo cíclico” se refiere a un anillo cerrado hidrocarbonado, que puede ser clasificado como grupo alicíclico, aromático o heterocíclico.

25 El término “grupo alicíclico” se refiere a un grupo hidrocarbonado cíclico con propiedades parecidas a grupos alifáticos.

30 El término “grupo aromático” o el “grupo arilo” se refieren a un grupo hidrocarbonado aromático mono o policíclico.

35 El término “grupo heterocíclico” se refiere a un anillo cerrado hidrocarbonado, en el que uno o más de uno de los átomos del anillo es un elemento diferente al carbono (por ejemplo, nitrógeno, oxígeno, azufre, etc.).

40 El término “polímero de polietilenglicol” se refiere a cadenas hidrocarbonadas, sustituidas o no, que contienen unidades repetitivas del grupo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$.

45 Tal y como se entiende en esta área técnica, la existencia de un alto grado de sustitución no es únicamente tolerado, sino que es aconsejado. Por lo tanto, puede existir sustitución en los péptidos de la presente invención. Con el fin de simplificar la presente descripción de la invención, los términos “grupo” y “bloque” se utilizarán para diferenciar entre especies químicas que permiten sustitución o que pueden ser sustituidas (“grupo”), y aquellas que no permiten sustitución o que no pueden ser sustituidas (“bloque”). De esta forma, cuando el término “grupo” se usa para describir un sustituyente químico, el material químico descrito incluye tanto el grupo no sustituido como aquel que contiene los átomos de O, N o S.

50 Por otro lado, cuando el término “bloque” se utiliza para describir un compuesto químico o sustituyente, únicamente puede incluirse material químico no sustituido. Por ejemplo, la expresión “grupo alquilo” incluirá no únicamente sustituyentes alquílicos saturados de cadena abierta, tales como metilo, etilo, propilo, isobutilo y similares, sino también sustituyentes alquílicos que contengan otros sustituyentes conocidos en el estado de la técnica, tales como hidroxilo, alcoxi, amino, carboxilo, carboxamido, átomos de halógeno, ciano, nitro, alquilsulfonilo, y otros. De este modo, “grupo alquilo” incluye grupos éteres, haloalquilos, alcoholes, tioles, carboxilos, aminas, hidroxialquilos, sulfoalquilos, guanidinos, y otros. Por otro lado, la expresión “bloque alquilo” se limita únicamente a la inclusión de sustituyentes alquílicos saturados de cadena abierta, tales como metilo, etilo, propilo, isobutilo y similares.

55 En el contexto de la presente invención “secuencia de aminoácidos derivada de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25” significa cualquier secuencia de aminoácidos o fragmento contenido en la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID No.1, o cualquier secuencia de aminoácidos que difiera de una secuencia contenida en la secuencia SEQ ID No.1 por mutación, inserción, delección o sustitución de al menos un aminoácido, o por degeneración del código genético, siempre y cuando corresponda a un péptido que posea la actividad de la proteína SNAP-25. Las mutaciones, inserciones o sustituciones pueden tener lugar mediante aminoácidos codificados genéticamente o mediante aminoácidos no codificados, naturales o no, como por ejemplo, y sin sentido limitativo, citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, 4-clorofenilalanina, ácido 2,3-diaminopropiónico, ácido 2,4-diaminobutírico, cicloserina, carnitina, cistina, penicilamina, ácido piroglutámico, tienilalanina, hidroxiprolina, *allo*-isoleucina, *allo*-treonina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina, β -alanina, norleucina, *N*-metilaminoácidos, β -aminoácidos o γ -aminoácidos entre otros, así como sus derivados. Una lista de los aminoácidos no naturales se puede encontrar en el artículo “Unusual amino acids in peptide synthesis” de Roberts D.C. y Vellaccio F., en *The Peptides*, Vol. 5 (1983), Chapter VI, Gross E. and Meienhofer J., Eds., Academic Press, New York, USA o bien en los catálogos comerciales de las empresas especializadas del sector, como por ejemplo NeoMPS, Bachem, Novabiochem, Sigma-Aldrich, Peptides International, Advanced ChemTech, Chem-Impex, Maybridge Chemical, Chirotech Technology, Peninsula Laboratories o RSP Amino Acid Analogues entre otras.

65 Dentro de los péptidos de la invención derivados de la secuencia de aminoácidos de SNAP-25 definida por la SEQ ID No.1 y modificados químicamente de manera irreversible, las secuencias preferidas son aquellas que poseen una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia de la región amino-terminal de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID No. 2, o de la región carboxi-terminal de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID No. 3, más

preferentemente contenidas en la región comprendida entre los residuos 10 a 22, definida por la SEQ ID No.4, o contenidas en la región comprendida entre los residuos 25 a 40, definida por la SEQ ID No.5, o contenidas en la región comprendida entre los residuos 65 a 81, definida por la SEQ ID No.6, o contenidas en la región comprendida entre los residuos 181 a 206, definida por la SEQ ID No.7, más concretamente contenidas en la región comprendida entre los residuos 12 a 19, definida por la SEQ ID No.8, o contenidas en la región comprendida entre los residuos 26 a 38, definida por la SEQ ID No.9, o contenidas en la región comprendida entre los residuos 68 a 79, definida por la SEQ ID No.10, y específicamente contenidas en la región comprendida entre los residuos 12 a 17, definida por la SEQ ID No.11.

Asimismo, la invención también incluye péptidos sustancialmente homólogos a los péptidos derivados de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25, modificados químicamente de manera irreversible. Por “péptidos sustancialmente homólogos” se entiende aquellas secuencias de aminoácidos que son como mínimo un 60%, preferentemente un 80% y más preferentemente un 95% idénticas a la secuencia SEQ ID No.1. El “porcentaje de identidad” se refiere al porcentaje de aminoácidos que son idénticos entre dos secuencias de aminoácidos que se comparan, después de una alineación óptima de estas secuencias, donde dicho porcentaje es meramente estadístico y las diferencias entre las dos secuencias de aminoácidos se distribuyen aleatoriamente a lo largo de la secuencia. Por “alineación óptima” se entiende aquella alineación de las secuencias de aminoácidos que da lugar a un mayor porcentaje de identidad. El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posiciones idénticas en las que un aminoácido es idéntico en las dos secuencias que se comparan, dividiendo el número de posiciones idénticas por el número de posiciones comparadas y multiplicando el resultado obtenido por 100 para obtener el porcentaje de identidad entre las dos secuencias. Las comparaciones de secuencias entre dos secuencias de aminoácidos se pueden llevar a cabo manualmente o mediante programas informáticos como por ejemplo el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), accesible por internet en el sitio <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.

Dentro del ámbito de la presente invención se encuentran las sales cosmética o farmacéuticamente aceptables de los péptidos proporcionados por esta invención. El término “sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables” incluye las sales habitualmente utilizadas para formar sales metálicas o sales de adición de ácidos, bien sean orgánicos (como por ejemplo acetato, citrato, oleato, trifluoroacetato, oxalato o gluconato entre otros) o inorgánicos (como por ejemplo cloruro, sulfato, borato o carbonato entre otros). La naturaleza de la sal no es crítica, siempre y cuando sea cosméticamente o farmacéuticamente aceptable. Las sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables de los péptidos de la invención pueden obtenerse por métodos convencionales, bien conocidos en el estado de la técnica.

La síntesis de los péptidos de la invención puede realizarse según métodos convencionales, conocidos en el estado de la técnica, como por ejemplo la adaptación de los métodos de síntesis de péptidos en fase sólida [Stewart J.M. y Young J. D. (1984) “Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd edition” Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois; Bodanzsky M. y Bodanzsky A. (1984) “The practice of Peptide Synthesis” Springer Verlag, New York; Lloyd-Williams P., Albericio F. y Giralt E. (1997) “Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins” CRC, Boca Raton (FL, USA)], la síntesis en solución, una combinación de los métodos de síntesis en fase sólida y en solución o la síntesis enzimática [Kullmann W. (1980) “Proteases as catalysts for enzymic syntheses of opioid peptides” J. Biol. Chem. 255, 8234-8238]. Los péptidos se pueden obtener igualmente por fermentación de una cepa bacteriana, modificada o no por ingeniería genética con el objetivo de producir las secuencias deseadas, o bien por hidrólisis controlada de proteínas de origen animal o vegetal, preferentemente vegetal, que libere fragmentos peptídicos que contengan, al menos, la secuencia deseada.

Por ejemplo, un método de obtención de los péptidos de la invención es aquel en el cual se hace reaccionar un fragmento del péptido de la invención que posee un grupo carboxilo libre o un derivado reactivo de éste, con un fragmento complementario, que posee un grupo amino, con al menos un átomo de hidrógeno libre, con la consecuente formación de un enlace tipo amida, y donde dichos fragmentos presentan los grupos funcionales que no participan en la formación del enlace tipo amida, si los hubiera, convenientemente protegidos, con grupos protectores temporales o permanentes.

Otro ejemplo de método de obtención de los péptidos de la presente invención es aquel en el cual se hace reaccionar un fragmento del péptido de la invención que posee un grupo saliente, como por ejemplo el grupo tosilo, el grupo mesilo y grupos halógeno entre otros, con un fragmento complementario que posee un grupo amino con al menos un átomo de hidrógeno libre mediante una reacción de sustitución nucleófila, y donde dichos fragmentos presentan los grupos funcionales que no participan en la formación del enlace N-C, si los hubiera, convenientemente protegidos, con grupos protectores temporales o permanentes. Ejemplos de grupos protectores, su introducción y su eliminación, pueden encontrarse descritos en la literatura [Greene T.W. (1981) “Protective groups in organic synthesis” John Wiley & Sons, New York; Atherton B. y Sheppard R.C. (1989) “Solid Phase Peptide Synthesis: A practical approach” IRL Oxford University Press]. El término “grupos protectores” incluye también a los soportes poliméricos empleados en la síntesis en fase sólida.

Cuando la síntesis se realiza total o parcialmente en fase sólida, se pueden citar como soportes sólidos a utilizar en el método de la invención, los soportes de poliestireno, polietilenglicol injertado en poliestireno y similares, como por ejemplo resinas *p*-metilbenzidrilamina (MBHA) [Matsueda G.R. y Stewart J.M. (1981) “A *p*-methylbenzhydrylamine resin for improved solid-phase synthesis of peptide amides” Peptides 2, 45-50], resinas 2-clorotritilo [(a) Barios K., Gatos D., Kallitsis J., Papaphotiu G., Sotiriu P., Wenqing Y. y Schafer W. (1989) “Darstellung geschützter peptid-fragmente unter einatz substituierter triphenylmethyl-harze” Tetrahedron Lett. 30, 3943-3946;(b) Barios K., Gatos D.,

Ka polos S., Papaphotiu G., Schafer W. y Wenqing Y. (1989) "Veresterung von partiell geschützten peptid-fragmenten mit harzen. Einsatz von 2-chlorotritylchlorid zur synthese von Leu15 -gastrin I" Tetrahedron Lett. 30, 3947-3951], resinas TentaGel® (Rapp Polymere GmbH), resinas ChemMatrix® (Matrix Innovation, Inc) y similares, que pueden incluir o no un espaciador lábil, tal como ácido 5-(4-aminometil-3,5-dimetoxifenoxi) valérico (PAL) [Albericio F., Kneib-Cordonier N., Biancalana S., Gera L., Masada R.I., Hudson D. y Barany G. (1990) "Preparation and application of the 5-(4-(9-fluorenylmethyloxycarbonyl)aminomethyl-3,5-dimethoxy-phenoxy)-valeric acid (PAL) handle for the solid-phase synthesis of C-terminal peptide amides under mild conditions" *J. Org. Chem.* 55, 3730-3743], ácido 2-[4-aminometil-(2,4-dimetoxifenil)] fenoxiacético (AM) [Rink H. (1987) "Solid-phase synthesis of protected peptide fragments using a trialkoxy-diphenyl-methylester resin" *Tetrahedron Lett.* 28, 3787-3790], Wang [Wang S.S. (1973) "p-Alkoxybenzyl Alcohol Resin and p-Alkoxybenzyloxycarbonylhydrazide Resin for Solid Phase Synthesis of Protected Peptide Fragments" *J. Am. Chem. Soc.* 95, 1328-1333] y similares, que permiten la desprotección y escisión simultánea del compuesto del soporte polimérico.

Los péptidos de la invención pueden administrarse para regular la excitación neuronal por cualquier medio que produzca el contacto de los compuestos con el sitio de acción del mismo en el cuerpo de un mamífero, preferiblemente el del ser humano, en forma de composición que los contiene. En este sentido, la invención proporciona una composición cosmética o farmacéutica que comprende al menos un péptido de fórmula general (I) o sus sales cosmética o farmacéuticamente aceptables. Dichas composiciones pueden ser preparadas mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Los péptidos de la invención se utilizan en la composición cosmética o farmacéutica de la presente invención a unas concentraciones cosmética o farmacéuticamente efectivas para conseguir el efecto deseado; de forma preferida entre el 0.00000001% (en peso) y el 20% (en peso); preferentemente entre el 0.00001% (en peso) y el 10% (en peso) y más específicamente entre el 0.0001% (en peso) y el 5% (en peso).

Los péptidos objeto de la presente invención tienen una solubilidad en agua variable, según sea la naturaleza de su secuencia o la modificación en los extremos amino y carboxi-terminal que presenten. Aquellos que no sean solubles en agua pueden solubilizarse en solventes convencionales cosmética o farmacéuticamente aceptables tales como por ejemplo etanol, propanol o isopropanol, propilenglicol, glicerina, butilenglicol o polietilenglicol.

La cantidad farmacéuticamente efectiva de los péptidos y/o composiciones farmacéuticas según la invención, que debe administrarse para tratar un estado patológico, así como su dosificación, dependerá de numerosos factores, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la alteración o trastorno, la ruta y frecuencia de administración y de los péptidos en particular a utilizar.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los péptidos de la invención pueden presentarse en cualquier forma de administración, por ejemplo, sólida o líquida, y pueden administrarse por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, nasal, parenteral, rectal, tópica o transdérmica, para lo cual incluirán los excipientes farmacéuticamente aceptables necesarios para la formulación de la forma de administración deseada. En el contexto de la presente invención, el término "parenteral" incluye inyecciones subcutáneas, intradérmicas, intravasculares como por ejemplo intravenosas, intramusculares, espinales, intracraneales, intraarticulares, intratecales e intraperitoneales, así como cualquier otra inyección similar o técnica de infusión. Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el "Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid.

Los péptidos de la invención también se pueden incorporar previamente en sistemas de vehiculización y/o en sistemas de liberación sostenida cosméticos o farmacéuticos como liposomas, milipartículas, micropartículas y nanopartículas, esponjas, vesículas, micelas, miliesferas, microesferas y nanoesferas, lipoesferas, milicápsulas, microcápsulas y nanocápsulas, así como en microemulsiones y nanoemulsiones, con el fin de conseguir una mayor penetración del principio activo y/o mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del mismo. Las formulaciones de liberación controlada pueden prepararse mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, y pueden administrarse, por ejemplo, por administración tópica incluyendo los parches adhesivos, o por vía oral, rectal o implantación subcutánea, o por implantación directa en una parte del cuerpo concreta, y preferentemente deben liberar una cantidad relativamente constante de los péptidos de la invención. La cantidad de péptido contenida en la formulación de liberación controlada dependerá, por ejemplo, del sitio de administración, la cinética y duración de la liberación del péptido de la invención así como la naturaleza de la condición a ser tratada o prevenida.

Los péptidos de la presente invención también pueden adsorberse sobre polímeros orgánicos sólidos o soportes minerales como talco, bentonita, sílice, almidón o maltodextrina entre otros.

Las preparaciones cosméticas o farmacéuticas que contienen los péptidos de la presente invención pueden usarse en distintos tipos de formulaciones de aplicación tópica como por ejemplo, y sin sentido limitativo, cremas, emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, linimentos, sueros, jabones, ungüentos, mousses, pomadas, barras, lápices y vaporizadores ("sprays"), incluyendo las formulaciones de permanencia ("leave on") y las de enjuagado ("rinse-off"), así como pueden ser incorporadas mediante técnicas conocidas por expertos en la materia a distintos tipos de accesorios sólidos tales como por ejemplo toallitas, hidrogeles, parches adhesivos (o no adhesivos) o mascarillas faciales, o pueden incorporarse a distintos pro-

ductos de línea de maquillaje tales como fondos de maquillaje, lociones, leches desmaquillantes, correctores de ojeras, sombras de ojos y barras de labios entre otros.

Los péptidos también pueden incorporarse a tejidos para la confección de prendas que estén en contacto directo con la piel del cuerpo, de modo que liberen los péptidos de la invención bien por biodegradación del sistema de anclaje al tejido o bien por la fricción de la prenda con el cuerpo, por la humedad corporal, por el pH de la piel o por la temperatura corporal. Ejemplos de prendas, tejidos y medios de inmovilización de los péptidos a los tejidos, entre los que se encuentran la microencapsulación, pueden encontrarse descritos en la literatura y son conocidos en el estado de la técnica [Schaab C.K. (1986) "Impregnating Fabrics With Microcapsules", HAPPI May 1986; Nelson G. (2002) "Application of microencapsulation in textiles" Int. J. Pharm. 242, 55-62]. Prendas preferidas son vendas.

La composición cosmética o farmacéutica objeto de la presente invención puede aplicarse en las zonas del cuerpo que requieran tratamiento o cuidado mediante inyección subcutánea, inyección intradérmica, cura oclusiva o mediante iontoforesis, con el fin de conseguir una mayor penetración del principio activo. La zona de aplicación vendrá determinada por la naturaleza de la condición a tratar. Una zona preferida para la aplicación es la zona de la frente que presenta arrugas de expresión así como en el espacio entre las cejas, las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

La composición cosmética o farmacéutica reivindicada en la presente invención puede contener ingredientes adicionales comúnmente empleados en composiciones para el cuidado, limpieza y tratamiento de la piel, tales como por ejemplo, y sin sentido limitativo, agentes emulsionantes, emolientes, disolventes orgánicos, acondicionadores de la piel como por ejemplo humectantes, alfa-hidroxiácidos, hidratantes, vitaminas, pigmentos o colorantes, polímeros gelificantes, espesantes, suavizantes, agentes antiarrugas, agentes capaces de disminuir o tratar las bolsas bajo los ojos, agentes blanqueantes o despigmentantes, agentes exfoliantes, agentes anti-envejecimiento, agentes capturadores de radicales libres y/o anti-contaminación atmosférica, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes antioxidantes, agentes anti-glicación, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, agentes estimuladores de la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o capaces de inhibir su degradación, como por ejemplo agentes estimuladores de la síntesis de colágeno, agentes estimuladores de la síntesis de elastina, agentes estimuladores de la síntesis de decorina, agentes estimuladores de la síntesis de laminina, agentes inhibidores de la degradación de colágeno, agentes inhibidores de la degradación de elastina, agentes estimuladores de la proliferación de fibroblastos, agentes estimuladores de la proliferación de queratinocitos, agentes estimuladores de la diferenciación de queratinocitos, agentes estimuladores de la síntesis de lípidos y componentes del estrato córneo (ceramidas, ácidos grasos, etc.), agentes dermorelajantes, agentes estimuladores de la síntesis de glicosaminoglicanos, agentes reafirmantes, agentes antiestrías, agentes calmantes, agentes antiinflamatorios, agentes que actúen sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, agentes que actúen sobre el metabolismo de las células, agentes estimuladores y/o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes destinados a mejorar la unión dermis-epidermis, conservantes, perfumes, agentes quelantes, extractos vegetales, aceites esenciales, extractos marinos, agentes provenientes de la biofermentación, sales minerales, extractos celulares y filtros solares (agentes fotoprotectores de naturaleza orgánica o mineral activos contra los rayos ultravioleta A y B) entre otros, siempre que sean física y químicamente compatibles con el resto de componentes de la composición y en especial con los péptidos de fórmula general (I) contenidos en la composición de la presente invención. La naturaleza de dichos ingredientes adicionales puede ser sintética o de origen natural, como por ejemplo extractos vegetales, o provenir de un proceso de biofermentación.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que contiene una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz de al menos un péptido de la invención, y además una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz de al menos un extracto con actividad antiarrugas y/o anti-envejecimiento como por ejemplo y sin sentido limitativo los extractos de *Vitis vinifera*, *Rosa canina*, *Curcuma longa*, *Iris pallida*, *Theobroma cacao*, *Ginkgo biloba*, o *Dunaliella salina* entre otros o bien de además al menos un compuesto sintético, extracto o producto de biofermentación con actividad antiarrugas y/o anti-envejecimiento como por ejemplo y sin sentido limitativo Matrixyl[®] comercializado por Sederma, Vialox[®] o Syn-ake[®] comercializados por Pentapharm, Myoxinol[™] comercializado por Cognis, Algisum C[®] o Hydroxyprolisilane CN[®], comercializados por Exsymol, Argireline[®], Leuphasyl[®], Aldenine[®], Decorinyl[®], Decorinol[®] o Lipochroman[®] comercializados por Lipotec, Kollaren[®] comercializado por Institut Europeen de Biologie Cellulaire, Collaxyl[®] o Quintescine[®] comercializados por Vincience, antagonistas del canal de Ca²⁺ como la alverina, las sales de manganeso o de magnesio, ciertas aminas secundarias o terciarias, retinol y sus derivados, idebenona y sus derivados, Coenzima Q10 y sus derivados, ácido boswélico y sus derivados, ácido gamma-aminobutírico o agonistas de canales de cloruro entre otros.

Asimismo, las composiciones de la presente invención pueden contener o se pueden coadministrar con compuestos analgésicos y/o compuestos antiinflamatorios con el fin de disminuir la hinchazón y la irritación asociadas a pieles sensibles. Entre dichos compuestos pueden destacarse compuestos de tipo esteroideo como la hidrocortisona, de tipo no esteroideo como el paracetamol o el ácido acetilsalicílico o extractos naturales o aceites esenciales con actividad analgésica y antiinflamatoria intrínseca.

Los péptidos de la invención poseen un mecanismo de acción similar al de la toxina botulínica inhibiendo la exocitosis neuronal, por lo que se puede considerar que los péptidos demostrarán eficacia en el tratamiento de las arrugas faciales y/o la asimetría facial, así como en el tratamiento de aquellas condiciones que cursen con espasticidad muscular, como las distonias, estrabismo, blefarospasmo, tortícolis, tics, etc.

Por tanto, un aspecto adicional de esta invención se refiere al uso de al menos un péptido de fórmula general (I) en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica para el tratamiento de aquellas condiciones de los mamíferos, preferentemente de los humanos, que requieran regular la exocitosis neuronal. Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de al menos un péptido de fórmula general (I) en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica para el tratamiento, limpieza o cuidado de la piel. Un aspecto adicional de esta invención se refiere al uso de al menos un péptido derivado de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 modificado químicamente de manera irreversible en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica para reducir y/o eliminar la asimetría facial y las arrugas faciales, preferentemente las arrugas de expresión. Otro aspecto adicional de esta invención se refiere al uso de al menos un péptido derivado de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 modificado químicamente de manera irreversible en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica para tratar aquellas patologías o desórdenes neurológicos que cursan con espasticidad muscular, como son las distonias, estrabismo, blefarospasmo, tortícolis, tics, etc.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método cosmético o farmacéutico para tratar aquellas condiciones de los mamíferos que requieran una regulación de la exocitosis neuronal, preferentemente de los humanos, que comprende la administración de una cantidad eficaz de al menos un péptido de fórmula general (I), preferiblemente en forma de una composición cosmética o farmacéutica que los contiene. La presente invención proporciona, además, un método cosmético o farmacéutico para reducir y/o eliminar las arrugas del rostro o para tratar la asimetría facial que comprende la aplicación en la piel del rostro de una composición cosmética o farmacéutica que contiene al menos un péptido de la invención o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables. Asimismo, la presente invención proporciona un método cosmético o farmacéutico para tratar aquellas patologías o desórdenes neurológicos que cursan con espasticidad muscular, como son las distonias, estrabismo, blefarospasmo, tortícolis, tics, etc. que comprende la aplicación de una composición cosmética o farmacéutica que contiene al menos un péptido de la invención o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables.

La frecuencia de la aplicación puede variar ampliamente, dependiendo de las necesidades de cada sujeto, sugiriéndose un rango de aplicación desde una vez al mes hasta 10 veces al día, preferentemente desde una vez a la semana hasta 4 veces al día, más preferentemente desde tres veces por semana hasta dos veces al día, aún más preferentemente una vez al día.

Método cosmético o farmacéutico preferido es aquel en que la aplicación se realiza en aquellas áreas del rostro o la frente marcadas con arrugas de expresión, preferentemente sobre las arrugas alrededor de la boca y/o los ojos, y/o sobre las arrugas de la frente y/o sobre las arrugas del espacio entre las cejas.

35 Descripción de las figuras

La figura 1 muestra que en presencia de los péptidos de la invención a una concentración 0.1 mM, la liberación de [³H]-L-glutamato de cultivos primarios de neuronas de hipocampo de rata se inhibió más de un 40%, indicando que los compuestos son inhibidores de la exocitosis neuronal. La inhibición de la liberación de [³H]-L-glutamato por el péptido no modificado derivado de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 definido por SEQ ID No.11 a la misma concentración fue de sólo un 5%, requiriéndose concentraciones en un rango de 30 veces superiores (3 mM) para alcanzar niveles de inhibición comparables a los de los péptidos modificados irreversiblemente.

45 Ejemplos de realización

Los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan aquí sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención. Estos ejemplos se incluyen solamente con fines ilustrativos y no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica.

50 Metodología General

Síntesis química

Todos los procesos sintéticos se llevan a cabo en jeringas de polipropileno equipadas con discos de polietileno poroso. Todos los reactivos y disolventes son de calidad para síntesis y se usan sin ningún tratamiento adicional. Los disolventes y los reactivos solubles se eliminan por succión. La eliminación del grupo Fmoc se lleva a cabo con piperidina-DMF (2:8, v/v) (1 x 1 min, 1 x 5 min; 5 mL/g resina) [Lloyd-Williams P., Albericio F. y Giralt, E. (1997) "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins" CRC, Boca Raton (FL, USA)]. Los lavados entre las etapas de desprotección, acoplamiento, y, otra vez, desprotección se han llevado a cabo con DMF (3 x 1 min) usando cada vez 10 mL disolvente/g resina. Las reacciones de acoplamiento se han realizado con 3 mL disolvente/g resina. El control de los acoplamientos se realiza mediante el ensayo de la ninhidrina [Kaiser E., Colescott R.L., Bossinger C.D. y Cook P.I. (1970) "Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides" Anal. Biochem. 34, 595-598]. Todas las transformaciones sintéticas y lavados se han llevado a cabo a 25°C.

65 El análisis por espectrometría de masas por electroespray se lleva a cabo en un equipo Shimadzu (Kyoto, Japón) LCMS-QP 8000, empleando una mezcla de MeCN:H₂O 4:1 (+0.1% TFA) como fase móvil y un flujo de 0.2 mL/min.

ES 2 322 882 B1

Abreviaturas

Las abreviaturas empleadas para los aminoácidos siguen las reglas de la Comisión de Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB especificadas en *Eur. J. Biochem.* (1984) 138, 9-37 y en *J. Biol. Chem.* (1989) 264, 633-673.

5 AM, ácido 2-[4-aminometil-(2,4-dimetoxifenil)]-fenoxiacético; BoNT A, toxina botulínica serotipo A; cps, centipoise; DCM, diclorometano; DIEA, *N,N*-diisopropiletilamina; DIPCDI, *N,N'*-diisopropilcarbodiimida; DMF, *N,N*-dimetilformamida; DPPC, dipalmitoilfosfatidilcolina; eq., equivalente; Fmoc, fluorenilmetoxicarbonilo; HOBt, 1-hidroxibenzotriazol; INCI, International Nomenclature of Cosmetic Ingredients; MBHA, resina *p*-metilbenzhidrilamina; 10 MeCN, acetonitrilo; mLV, vesículas multilaminares; MeOH, metanol; NMP, *N*-metilpirrolidona; Pbf, 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo; PEG, polietilenglicol; PEG_n, -[NH-CH₂-(CH₂CH₂O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-CH₂CH₂-CO-]_n; rpm, revoluciones por minuto; SNAP-25, synaptosomal associated protein (25 kDa); *t*Bu, *tert*-butilo; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano; ULV, vesículas unilaminares.

15 Ejemplo 1

Obtención de Fmoc-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-AM-MBHA

20 Se tratan 151.3 g de la resina Fmoc-AM-MBHA de funcionalización 0.628 mmol/g (95 mmol, 1 eq.) con piperidina-DMF según el protocolo general descrito con el objetivo de eliminar el grupo Fmoc. Sobre la resina desprotegida se incorporan 154.1 g de Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH (237 mmol, 2.5 eq.) en presencia de DIPCDI (36.6 mL, 237 mmol, 2.5 eq.) y HOBt (35.6 g, 237 mmol, 2.5 eq.) utilizando DMF como disolvente durante 1 h.

25 La resina se lava posteriormente como se describe en los métodos generales y se repite el tratamiento de desprotección del grupo Fmoc para incorporar el siguiente aminoácido. Siguiendo los protocolos descritos se acoplan secuencialmente 154.1 g de Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH (237 mmol, 2.5 eq.), 87.5 g de Fmoc-Gln-OH (474 mmol, 5 eq.), 88.2 g de Fmoc-L-Met-OH (237 mmol, 2.5 eq.), 105.3 g de Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (237 mmol, 2.5 eq.) y 105.3 g de Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (237 mmol, 2.5 eq.) en presencia en cada acoplamiento de 36.5 g de HOBt (237 mmol, 2.5 eq.) y 36.6 mL de DIPCDI (237 mmol, 2.5 eq.), excepto en la etapa de incorporación de Fmoc-L-Gln-OH en el que se 30 emplearon 71.3 g de HOBt (474 mmol, 5 eq.).

La Fmoc-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-AM-MBHA obtenida se lava con DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) y se seca al vacío.

35 Ejemplo 2

Obtención de CH₃-(CH₂)_m-CO-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂

40 Se desprotege el grupo Fmoc amino-terminal de 1.68 g de Fmoc-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-AM-MBHA (0.5 mmol, 0.296 mmol/g, 1 eq.) como se describe en los métodos generales, y se incorpora CH₃-(CH₂)_m-COOH (5 mmol, 10 eq.) predisuelto en DMF (10 mL), en presencia de 770 mg de HOBt (5 mmol, 10 eq.) y 770 μL de DIPCDI (5 mmol, 10 eq.). Se deja reaccionar durante 15 h, pasadas las cuales la resina se lava con THF (5 x 1 min), DCM (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), MeOH (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), THE (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter (3 x 1 min), y se seca al vacío.

45 1.00 g de la peptidil-resina seca se tratan con 15 mL de TFA-³Pr₃Si-H₂O (90:5:5) durante 2 h a temperatura ambiente. Se recogen los filtrados sobre éter dietílico frío (100 mL), se centrifugan 5 min a 4000 rpm y se decanta la solución etérea. Se repiten los lavados con éter 5 veces. El precipitado final se seca al vacío.

m	cantidad obtenida	pureza	PM teórico	PM experimental
6	291.2mg	88.2%	[M+H] ⁺ = 972.5	[M+H] ⁺ = 973.8 [M+2H ⁺ /2] = 487.5
8	240.1mg	87.2%	[M+H] ⁺ = 1000.5	[M+H] ⁺ = 1001.8 [M+2H ⁺ /2] = 501.5
12	327.5mg	80.7%	[M+H] ⁺ = 1056.6	[M+H] ⁺ = 1057.8 [M+2H ⁺ /2] = 529.5
14	292.8mg	80.9%	[M+H] ⁺ = 1084.6	[M+H] ⁺ = 1085.9 [M+2H ⁺ /2] = 543.7
20	233.7mg	85.1%	[M+H] ⁺ = 1168.74	[M+H] ⁺ = 1170.0 [M+2H ⁺ /2] = 585.7

ES 2 322 882 B1

Ejemplo 3

Obtención de Ac-PEG_n-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂

5 Se desprotege el grupo Fmoc amino-terminal de 321.0 mg de Fmoc-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-AM-MBHA (0.095 mmol, 0.296 mmol/g, 1 eq.) como se describe en los métodos generales, y se incorporan Fmoc-PEG₁-OH (2.5 eq.) predisoluto en NMP, en presencia de 36.5 mg de HOBt (0.237 mmol, 2.5 eq.) y 36.6 μ L de DIPCDI (0.237 mmol, 2.5 eq.), durante 40-60 min. Se desprotege el grupo Fmoc amino-terminal como se describe en los métodos generales, y se lleva a cabo la reacción de incorporación de Fmoc-PEG₁-OH y la desprotección del Fmoc
10 (n-1) veces, donde n = 1-100 para la obtención de los distintos derivados. La acetilación del extremo amino-terminal se lleva a cabo con Ac₂O (2.5 eq.) y DIEA (2.5 eq.) en DMF durante 30 min.

15 La Ac-PEG_n-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-AM-MBHA resina se lava con DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) y se seca al vacío.

20 22.4 mg de Ac-PEG_n-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-AM-MBHA se tratan con 1,57 mL de del cóctel TFA-ⁱPr₃Si-H₂O (95:2.5:2.5) durante 5 min a 0°C seguidos de 90 min a temperatura ambiente. Se recogen los filtrados sobre éter dietílico frío (10 mL), se centrifugan 5 min a 4000 rpm y se decanta la solución etérea. Se repiten los lavados con éter 5 veces. El residuo aceitoso final se redissuelve en MeCN:H₂O 1:1 y se liofiliza.

n	cantidad obtenida	pureza	PM teórico	PM experimental
25 1	7.7mg	72%	[M+H] ⁺ = 1191.6	[M+2H ⁺ /2] = 596.4 [M+3H ⁺ /3] = 398.0
2	10.0mg	60%	[M+H] ⁺ = 1494.7	[M+2H ⁺ /2] = 747.6 [M+3H ⁺ /3] = 498.7
30 3	10.4mg	64%	[M+H] ⁺ = 1796.1	[M+2H ⁺ /2] = 898.7 [M+3H ⁺ /3] = 599.6 [M+4H ⁺ /4] = 449.8
35 4	13.7mg	65%	[M+H] ⁺ = 2099.5	[[M+2H ⁺ /2] = 1050 [M+3H ⁺ /3] = 700.4 [M+4H ⁺ /4] = 525.4 [M+5H ⁺ /5] = 420.5
40 5	10.4mg	65%	[M+H] ⁺ = 2400.3	[M+2H ⁺ /2] = 1201.1 [M+3H ⁺ /3] = 801.1 [M+4H ⁺ /4] = 601.0 [M+5H ⁺ /5] = 481.0 [M+6H ⁺ /6] = 400.9

50 Ejemplo 4

Obtención de Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH-(CH₂)_s-CH₃

55 Se incorporan 2.10 g de Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH (3.23 mmol, 1 eq.) disueltos en 20 mL de DCM a los que se han añadido 500 μ L de DIEA (2.9 mmol, 0.90 eq.) sobre la resina 2-clorotritilo (2.0 g, 3.3 mmol) seca. Se deja en agitación durante 5 min, pasados los cuales se añaden 1 mL de DIEA (5.9 mmol, 1.81 eq.). Se deja reaccionar durante 40 min. Se bloquean los grupos cloruro remanentes por tratamiento con 1.6 mL de MeOH.

60 Sobre 1 mmol de la aminoacil-resina Fmoc-Arg(Pbf)-CITrt[®], se desprotege el grupo Fmoc amino-terminal como se describe en los métodos generales y se incorporan 3.24 g de Fmoc-L-Arg(Pbf)-OH (5 mmol, 5 eq.) en presencia de DIPCDI (770 μ L, 5 mmol, 5 eq.) y HOBt (770 mg, 5 mmol, 5 eq.) utilizando DMF como disolvente durante 1 h. La resina se lava posteriormente como se describe en los métodos generales y se repite el tratamiento de desprotección del grupo Fmoc para incorporar el siguiente aminoácido. Siguiendo los protocolos descritos se acoplan secuencialmente
65 1.84 g de Fmoc-L-Gln-OH (5 mmol, 5 eq.), 1.86 g de Fmoc-L-Met-OH (5 mmol, 5 eq.), 2.12 g de Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH y 2.12 g de Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH (5 mmol, 5 eq.) en presencia en cada acoplamiento de 770 mg de HOBt (5 mmol, 5 eq.) y 770 μ L de DIPCDI (5 mmol, 5 eq.), excepto en la etapa de incorporación de Fmoc-L-Gln-OH en que se adicionan 1.54 g de HOBt (10 mmol, 10 eq.).

ES 2 322 882 B1

Se desprotege el grupo Fmoc amino-terminal como se describe en los métodos generales, se trata la peptidil-resina durante 30 min con 2.36 mL de anhídrido acético (25 mmol, 25 eq.) en presencia de 4.28 mL de DIEA (25 mmol, 25 eq.) utilizando DMF como disolvente, se lava con DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) y se seca al vacío.

5

El péptido completamente protegido [Ac-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)- Arg(Pbf)-OH] se obtiene por tratamiento durante 5 min de la peptidil-resina, previamente desecada al vacío en presencia de KOH, con una solución del 3% de TFA en DCM. Los filtrados se recogen sobre éter dietílico frío y se repite el tratamiento tres veces. Se rotavaporan a sequedad y a temperatura ambiente las soluciones etéreas, se resuspende el precipitado en 50% de MeCN en H₂O y se liofiliza. Se pesan 279 mg del crudo obtenido (367 μmol) en un balón, se añaden 3 eq. de CH₃-(CH₂)₈-NH₂ y 30 mL de DMF anhidra. Se añaden 120 μL de DIPCDI (2 eq.), y se deja reaccionar con agitación magnética a 47°C. Se controla la reacción mediante HPLC por desaparición del producto inicial, siendo completa tras 24 h. Se evapora el disolvente a sequedad y se coevapora dos veces con DCM. El residuo obtenido [Ac-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-Met-Gln-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-NH-(CH₂)₈-CH₃] se resuspende en 50 mL de una mezcla de TFA-ⁱPr₃Si-H₂O (90:5:5) y se deja reaccionar durante 30 min a temperatura ambiente. Se añaden 250 mL de éter dietílico frío, se rotavapora el disolvente y se realizan dos coevaporaciones adicionales con éter. El residuo se disuelve en una mezcla del 50% de MeCN en H₂O y se liofiliza.

20

s	cantidad obtenida	pureza	PM teórico	PM experimental
11	391.2mg	92.2%	[M+H] ⁺ = 1058.3	[M+H] ⁺ = 1057.9 [M+2H ⁺ /2] = 529.8
25	424.5mg	90.5%	[M+H] ⁺ = 1114.74	[M+H] ⁺ = 1114.0 [M+2H ⁺ /2] = 557.6

25

30

Ejemplo 5

35

Siguiendo los protocolos generales descritos en los ejemplos 1 a 4, variando de manera rutinaria la naturaleza de los reactivos y de las secuencias peptídicas, se obtuvieron adicionalmente los siguientes péptidos modificados químicamente de manera irreversible derivados de la secuencia de la proteína SNAP-25, incluidos en el alcance de la presente invención.

40

	Estructura	Peso molecular
1.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-EEMQRR-NH ₂	945,1
2.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-EEMQRR-NH ₂	1029,2
3.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-EEMQRR-NH ₂	1113,4
4.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-EEMQRR-NH ₂	1041,4
5.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-EEMQRRR-NH ₂	1016,4
6.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-EEMQRRR-NH ₂	1044,4

50

55

60

65

ES 2 322 882 B1

	7.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1072,5
	8.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1100,5
	9.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1128,6
5	10.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1156,6
	11.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1184,7
	12.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1112,7
	13.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-EEMQRRRA-NH ₂	1240,8
10	14.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1131,3
	15.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1159,3
	16.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1187,4
	17.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1215,4
15	18.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1243,5
	19.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1271,5
	20.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1299,6
	21.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1227,6
20	22.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-EEMQRRAD-NH ₂	1355,7
	23.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1685,9
	24.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1713,9
	25.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1742,0
25	26.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1770,0
	27.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1798,1
	28.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1826,1
	29.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1854,2
	30.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1782,2
30	31.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1910,3
	32.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2675,0
	33.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2703,0
	34.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2731,1
35	35.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2759,1
	36.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2787,2
	37.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2815,2
	38.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2843,3
40	39.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2771,3
	40.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2899,4
	41.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1574,8
	42.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1602,8
45	43.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1630,9
	44.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1658,9
	45.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1687,0
	46.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1715,0
50	47.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1743,1
	48.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1671,1
	49.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1799,2
	50.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1259,4
55	51.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1287,4
	52.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1315,5
	53.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1343,5
	54.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1371,6
60	55.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1399,6
	56.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1427,7
	57.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1355,7
	58.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-EEMQRRADQ-NH ₂	1483,8
	59.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1372,6
65	60.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1400,6

ES 2 322 882 B1

	61.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1428,7
	62.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1456,7
	63.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1484,8
5	64.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1512,8
	65.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1540,9
	66.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1468,9
	67.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-EEMQRRADQL-NH ₂	1597,0
10	68.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1187,4
	69.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1215,4
	70.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1243,5
	71.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1271,5
15	72.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1299,6
	73.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1327,6
	74.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1355,7
	75.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1283,7
20	76.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ELEEMQRR-NH ₂	1411,8
	77.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1258,5
	78.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1286,5
	79.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1314,6
25	80.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1342,6
	81.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1370,7
	82.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1398,7
	83.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1426,8
30	84.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1354,8
	85.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ELEEMQRRRA-NH ₂	1482,9
	86.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1373,6
	87.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1401,6
35	88.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1429,7
	89.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1457,7
	90.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1485,8
	91.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1513,8
40	92.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1541,9
	93.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1469,9
	94.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ELEEMQRRAD-NH ₂	1598,0
	95.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1501,7
	96.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1529,7
45	97.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1557,8
	98.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1585,8
	99.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1613,9
	100.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1641,9
50	101.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1670,0
	102.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1598,0
	103.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ELEEMQRRADQ-NH ₂	1726,1
	104.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1614,9
55	105.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1642,9
	106.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1671,0
	107.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1699,0
	108.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1727,1
60	109.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1755,1
	110.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1783,2
	111.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1711,2
	112.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-ELEEMQRRADQL-NH ₂	1839,3
65	113.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-KNLTDL-NH ₂	800,0
	114.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-KNLTDL-NH ₂	828,0

ES 2 322 882 B1

	115.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-KNLTDL-NH ₂	856,1
	116.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-KNLTDL-NH ₂	884,1
	117.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-KNLTDL-NH ₂	912,2
5	118.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-KNLTDL-NH ₂	940,2
	119.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-KNLTDL-NH ₂	968,3
	120.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-KNLTDL-NH ₂	896,3
	121.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-KNLTDL-NH ₂	1024,4
10	122.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1058,3
	123.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1086,3
	124.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1114,4
	125.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1142,4
15	126.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1170,5
	127.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1198,5
	128.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1226,6
	129.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1154,6
20	130.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-LEEMQRR-NH ₂	1282,7
	131.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1129,4
	132.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1157,4
	133.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1185,5
25	134.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1213,5
	135.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1241,6
	136.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1269,6
	137.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1297,7
30	138.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1225,7
	139.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-LEEMQRRRA-NH ₂	1353,8
	140.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1326,7
	141.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1354,7
35	142.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1382,8
	143.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1410,8
	144.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1438,9
	145.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1466,9
40	146.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1495,0
	147.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1423,0
	148.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-LEEMQRRAD-NH ₂	1551,1
	149.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1372,6
	150.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1400,6
45	151.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1428,7
	152.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1456,7
	153.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1484,8
	154.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1512,8
50	155.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1540,9
	156.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1468,9
	157.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-LEEMQRRADQ-NH ₂	1597,0
	158.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1485,8
55	159.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1513,8
	160.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1541,9
	161.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1569,9
	162.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1598,0
60	163.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1626,0
	164.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1654,1
	165.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1582,1
	166.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-LEEMQRRADQL-NH ₂	1710,2
65	167.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2649,0
	168.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2677,0

ES 2 322 882 B1

	169.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2705,1
	170.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2733,1
5	171.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2761,2
	172.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2789,2
	173.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2817,3
	174.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2745,3
	175.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-MAEDADMNRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2873,4
10	176.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1259,5
	177.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1287,5
	178.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1315,6
	179.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1343,6
15	180.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1371,7
	181.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1399,7
	182.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1427,8
	183.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1355,8
20	184.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-NQRATKMLGSG-NH ₂	1483,9
	185.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1145,4
	186.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1173,4
	187.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1201,5
25	188.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1229,5
	189.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1257,6
	190.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1285,6
	191.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1313,7
30	192.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1241,7
	193.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-QRATKMLGSG-NH ₂	1369,8
	194.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2274,6
	195.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2302,6
35	196.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2330,7
	197.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2358,7
	198.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2386,8
	199.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2414,8
40	200.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2442,9
	201.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2370,9
	202.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2499,0
	203.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	1945,3
	204.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	1973,3
45	205.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2001,4
	206.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2029,4
	207.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2057,5
	208.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2085,5
50	209.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2113,6
	210.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2041,6
	211.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2169,7
	212.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1701,0
55	213.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1729,0
	214.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1757,1
	215.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1785,1
	216.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1813,2
60	217.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1841,2
	218.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1869,3
	219.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1797,3
	220.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1925,4
65	221.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1517,8
	222.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1545,8

ES 2 322 882 B1

	223.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1573,9
	224.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1601,9
	225.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1630,0
5	226.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1658,0
	227.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1686,1
	228.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1614,1
	229.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1742,2
10	230.	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2962,4
	231.	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2990,4
	232.	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3018,5
	233.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3046,5
15	234.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3074,6
	235.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3102,6
	236.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3130,7
	237.	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3058,7
20	238.	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -CO-IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3186,8
	239.	Ac-EEMQRR-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	973,1
	240.	Ac-EEMQRR-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1001,1
	241.	Ac-EEMQRR-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1029,2
25	242.	Ac-EEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1085,3
	243.	Ac-EEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1141,4
	244.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1044,4
	245.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1072,4
	246.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1100,5
30	247.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1128,6
	248.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1156,6
	249.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1184,7
	250.	Ac-EEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1212,7
35	251.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1159,3
	252.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1187,3
	253.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1215,4
	254.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1243,5
40	255.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1271,5
	256.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1299,6
	257.	Ac-EEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1327,6
	258.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1713,9
45	259.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1741,9
	260.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1770,0
	261.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1798,1
	262.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1826,1
50	263.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1854,2
	264.	Ac-ELEEMQRRADQLA-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1882,2
	265.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	2660,0
	266.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	2688,0
55	267.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	2716,1
	268.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	2744,2
	269.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	2772,2
	270.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	2800,3
60	271.	Ac-ADESLESTRMLQLVEESKDAGI-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	2828,3
	272.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1559,8
	273.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1587,8
	274.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1615,9
65	275.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1644,0
	276.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1672,0

ES 2 322 882 B1

	277.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1700,1
	278.	Ac-DEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1728,1
5	279.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1244,4
	280.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1272,4
	281.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1300,5
	282.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1328,6
	283.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1356,6
10	284.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1384,7
	285.	Ac-EEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1412,7
	286.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1357,6
	287.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1385,6
15	288.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1413,7
	289.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1441,8
	290.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1469,8
	291.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1497,9
20	292.	Ac-EEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1525,9
	293.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1172,4
	294.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1200,4
	295.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1228,5
25	296.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1256,6
	297.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1284,6
	298.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1312,7
	299.	Ac-ELEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1340,7
30	300.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1243,5
	301.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1271,5
	302.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1299,6
	303.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1327,7
35	304.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1355,7
	305.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1383,8
	306.	Ac-ELEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1411,8
	307.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1358,6
40	308.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1386,6
	309.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1414,7
	310.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1442,8
	311.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1470,8
	312.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1498,9
45	313.	Ac-ELEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1526,9
	314.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1486,7
	315.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1514,7
	316.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1542,8
50	317.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1570,9
	318.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1598,9
	319.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1627,0
	320.	Ac-ELEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1655,0
55	321.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1599,9
	322.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1627,9
	323.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1656,0
	324.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1684,1
60	325.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1712,1
	326.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1740,2
	327.	Ac-ELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1768,2
	328.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	785,0
65	329.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	813,0
	330.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	841,1

ES 2 322 882 B1

	331.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	869,2
	332.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	897,2
	333.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	925,3
5	334.	Ac-KNLTDL-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	953,3
	335.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1043,3
	336.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1071,3
	337.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1099,4
10	338.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1127,5
	339.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1155,5
	340.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1183,6
	341.	Ac-LEEMQRR-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1211,6
15	342.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1114,4
	343.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1142,4
	344.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1170,5
	345.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1198,6
20	346.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1226,6
	347.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1254,7
	348.	Ac-LEEMQRRRA-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1282,7
	349.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1229,5
25	350.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1257,5
	351.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1285,6
	352.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1313,7
	353.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1341,7
30	354.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1369,8
	355.	Ac-LEEMQRRAD-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1397,8
	356.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1357,6
	357.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1385,6
35	358.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1413,7
	359.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1441,8
	360.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1469,8
	361.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1497,9
40	362.	Ac-LEEMQRRADQ-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1525,9
	363.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1470,8
	364.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1498,8
	365.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1526,9
	366.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1555,0
45	367.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1583,0
	368.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1611,1
	369.	Ac-LEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1639,1
	370.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	2634,0
50	371.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	2662,0
	372.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	2690,1
	373.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	2718,2
	374.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	2746,2
55	375.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	2774,3
	376.	Ac-MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	2802,3
	377.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1244,5
	378.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1272,5
60	379.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1300,6
	380.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1328,7
	381.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1356,7
	382.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1384,8
65	383.	Ac-NQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1412,8
	384.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1130,4

ES 2 322 882 B1

	385.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1158,4
	386.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1186,5
	387.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1214,6
5	388.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1242,6
	389.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1270,7
	390.	Ac-QRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1298,7
	391.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	2259,6
10	392.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	2287,6
	393.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	2315,7
	394.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	2343,8
	395.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	2371,8
15	396.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	2399,9
	397.	Ac-SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	2427,9
	398.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1930,3
	399.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1958,3
20	400.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1986,4
	401.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	2014,5
	402.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	2042,5
	403.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	2070,6
25	404.	Ac-TRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	2098,6
	405.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1729,0
	406.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1757,0
	407.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1785,1
30	408.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1813,2
	409.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1841,2
	410.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1869,3
	411.	Ac-LESTRRMLQLVEE-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1897,3
	412.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	1545,8
35	413.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	1573,8
	414.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	1601,9
	415.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	1630,0
	416.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	1658,0
40	417.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	1686,1
	418.	Ac-NKDMKEAEKNLT-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	1714,1
	419.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₅ -CH ₃	2990,4
	420.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₇ -CH ₃	3018,4
45	421.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₉ -CH ₃	3046,5
	422.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₁ -CH ₃	3074,6
	423.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₃ -CH ₃	3102,6
	424.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₅ -CH ₃	3130,7
50	425.	Ac-IMEKADS NKTRIDEANQRATKMLGSG-NH-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	3158,7
	426.	Ac-PEG ₁ -EEMQRRRA-NH ₂	1262,6
	427.	Ac-PEG ₂ -EEMQRRRA-NH ₂	1565,0
	428.	Ac-PEG ₃ -EEMQRRRA-NH ₂	1867,4
55	429.	Ac-PEG ₄ -EEMQRRRA-NH ₂	2169,7
	430.	Ac-PEG ₅ -EEMQRRRA-NH ₂	2472,1
	431.	Ac-PEG ₁ -EEMQRRAD-NH ₂	1377,5
	432.	Ac-PEG ₂ -EEMQRRAD-NH ₂	1679,9
60	433.	Ac-PEG ₃ -EEMQRRAD-NH ₂	1982,3
	434.	Ac-PEG ₄ -EEMQRRAD-NH ₂	2284,6
	435.	Ac-PEG ₅ -EEMQRRAD-NH ₂	2587,0
	436.	Ac-PEG ₁ -ELEEMQRRADQLA-NH ₂	1932,1
65	437.	Ac-PEG ₂ -ELEEMQRRADQLA-NH ₂	2234,5
	438.	Ac-PEG ₃ -ELEEMQRRADQLA-NH ₂	2536,9

ES 2 322 882 B1

	439.	Ac-PEG ₄ -ELEEMQRRADQLA-NH ₂	2839,2
	440.	Ac-PEG ₅ -ELEEMQRRADQLA-NH ₂	3141,6
5	441.	Ac-PEG ₁ -ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	2921,2
	442.	Ac-PEG ₂ -ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	3223,6
	443.	Ac-PEG ₃ -ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	3526,0
	444.	Ac-PEG ₄ -ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	3828,3
	445.	Ac-PEG ₅ -ADESLESTRRMLQLVEESKDAGI-NH ₂	4130,7
10	446.	Ac-PEG ₁ -DEANQRATKMLGSG-NH ₂	1821,0
	447.	Ac-PEG ₂ -DEANQRATKMLGSG-NH ₂	2123,4
	448.	Ac-PEG ₃ -DEANQRATKMLGSG-NH ₂	2425,8
	449.	Ac-PEG ₄ -DEANQRATKMLGSG-NH ₂	2728,1
15	450.	Ac-PEG ₅ -DEANQRATKMLGSG-NH ₂	3030,5
	451.	Ac-PEG ₁ -EEMQRRADQ-NH ₂	1505,6
	452.	Ac-PEG ₂ -EEMQRRADQ-NH ₂	1808,0
	453.	Ac-PEG ₃ -EEMQRRADQ-NH ₂	2110,4
20	454.	Ac-PEG ₄ -EEMQRRADQ-NH ₂	2412,7
	455.	Ac-PEG ₅ -EEMQRRADQ-NH ₂	2715,1
	456.	Ac-PEG ₁ -EEMQRRADQL-NH ₂	1618,8
	457.	Ac-PEG ₂ -EEMQRRADQL-NH ₂	1921,2
25	458.	Ac-PEG ₃ -EEMQRRADQL-NH ₂	2223,6
	459.	Ac-PEG ₄ -EEMQRRADQL-NH ₂	2525,9
	460.	Ac-PEG ₅ -EEMQRRADQL-NH ₂	2828,3
	461.	Ac-PEG ₁ -ELEEMQRR-NH ₂	1433,6
30	462.	Ac-PEG ₂ -ELEEMQRR-NH ₂	1736,0
	463.	Ac-PEG ₃ -ELEEMQRR-NH ₂	2038,4
	464.	Ac-PEG ₄ -ELEEMQRR-NH ₂	2340,7
	465.	Ac-PEG ₅ -ELEEMQRR-NH ₂	2643,1
35	466.	Ac-PEG ₁ -ELEEMQRRRA-NH ₂	1504,7
	467.	Ac-PEG ₂ -ELEEMQRRRA-NH ₂	1807,1
	468.	Ac-PEG ₃ -ELEEMQRRRA-NH ₂	2109,5
	469.	Ac-PEG ₄ -ELEEMQRRRA-NH ₂	2411,8
40	470.	Ac-PEG ₅ -ELEEMQRRRA-NH ₂	2714,2
	471.	Ac-PEG ₁ -ELEEMQRRAD-NH ₂	1619,8
	472.	Ac-PEG ₂ -ELEEMQRRAD-NH ₂	1922,2
	473.	Ac-PEG ₃ -ELEEMQRRAD-NH ₂	2224,6
45	474.	Ac-PEG ₄ -ELEEMQRRAD-NH ₂	2526,9
	475.	Ac-PEG ₅ -ELEEMQRRAD-NH ₂	2829,3
	476.	Ac-PEG ₁ -ELEEMQRRADQ-NH ₂	1747,9
	477.	Ac-PEG ₂ -ELEEMQRRADQ-NH ₂	2050,3
	478.	Ac-PEG ₃ -ELEEMQRRADQ-NH ₂	2352,7
50	479.	Ac-PEG ₄ -ELEEMQRRADQ-NH ₂	2655,0
	480.	Ac-PEG ₅ -ELEEMQRRADQ-NH ₂	2957,4
	481.	Ac-PEG ₁ -ELEEMQRRADQL-NH ₂	1861,1
	482.	Ac-PEG ₂ -ELEEMQRRADQL-NH ₂	2163,5
55	483.	Ac-PEG ₃ -ELEEMQRRADQL-NH ₂	2465,9
	484.	Ac-PEG ₄ -ELEEMQRRADQL-NH ₂	2768,2
	485.	Ac-PEG ₅ -ELEEMQRRADQL-NH ₂	3070,6
	486.	Ac-PEG ₁ -KNLTDL-NH ₂	1046,2
60	487.	Ac-PEG ₂ -KNLTDL-NH ₂	1348,6
	488.	Ac-PEG ₃ -KNLTDL-NH ₂	1651,0
	489.	Ac-PEG ₄ -KNLTDL-NH ₂	1953,3
	490.	Ac-PEG ₅ -KNLTDL-NH ₂	2255,7
65	491.	Ac-PEG ₁ -LEEMQRR-NH ₂	1304,5

ES 2 322 882 B1

	492.	Ac-PEG ₂ -LEEMQRR-NH ₂	1606,9
	493.	Ac-PEG ₃ -LEEMQRR-NH ₂	1909,3
	494.	Ac-PEG ₄ -LEEMQRR-NH ₂	2211,6
5	495.	Ac-PEG ₅ -LEEMQRR-NH ₂	2514,0
	496.	Ac-PEG ₁ -LEEMQRRRA-NH ₂	1375,6
	497.	Ac-PEG ₂ -LEEMQRRRA-NH ₂	1678,0
	498.	Ac-PEG ₃ -LEEMQRRRA-NH ₂	1980,4
10	499.	Ac-PEG ₄ -LEEMQRRRA-NH ₂	2282,7
	500.	Ac-PEG ₅ -LEEMQRRRA-NH ₂	2585,1
	501.	Ac-PEG ₁ -LEEMQRRAD-NH ₂	1572,9
	502.	Ac-PEG ₂ -LEEMQRRAD-NH ₂	1875,3
15	503.	Ac-PEG ₃ -LEEMQRRAD-NH ₂	2177,7
	504.	Ac-PEG ₄ -LEEMQRRAD-NH ₂	2480,0
	505.	Ac-PEG ₅ -LEEMQRRAD-NH ₂	2782,4
	506.	Ac-PEG ₁ -LEEMQRRADQ-NH ₂	1618,8
20	507.	Ac-PEG ₂ -LEEMQRRADQ-NH ₂	1921,2
	508.	Ac-PEG ₃ -LEEMQRRADQ-NH ₂	2223,6
	509.	Ac-PEG ₄ -LEEMQRRADQ-NH ₂	2525,9
	510.	Ac-PEG ₅ -LEEMQRRADQ-NH ₂	2828,3
25	511.	Ac-PEG ₁ -LEEMQRRADQL-NH ₂	1732,0
	512.	Ac-PEG ₂ -LEEMQRRADQL-NH ₂	2034,4
	513.	Ac-PEG ₃ -LEEMQRRADQL-NH ₂	2336,8
	514.	Ac-PEG ₄ -LEEMQRRADQL-NH ₂	2639,1
30	515.	Ac-PEG ₅ -LEEMQRRADQL-NH ₂	2941,5
	516.	Ac-PEG ₁ -MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	2895,2
	517.	Ac-PEG ₂ -MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	3197,6
	518.	Ac-PEG ₃ -MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	3500,0
35	519.	Ac-PEG ₄ -MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	3802,3
	520.	Ac-PEG ₅ -MAEDADMRNELEEMQRRADQL-NH ₂	4104,7
	521.	Ac-PEG ₁ -NQRATKMLGSG-NH ₂	1505,7
	522.	Ac-PEG ₂ -NQRATKMLGSG-NH ₂	1808,1
40	523.	Ac-PEG ₃ -NQRATKMLGSG-NH ₂	2110,5
	524.	Ac-PEG ₄ -NQRATKMLGSG-NH ₂	2412,8
	525.	Ac-PEG ₅ -NQRATKMLGSG-NH ₂	2715,2
	526.	Ac-PEG ₁ -QRATKMLGSG-NH ₂	1391,6
45	527.	Ac-PEG ₂ -QRATKMLGSG-NH ₂	1694,0
	528.	Ac-PEG ₃ -QRATKMLGSG-NH ₂	1996,4
	529.	Ac-PEG ₄ -QRATKMLGSG-NH ₂	2298,7
	530.	Ac-PEG ₅ -QRATKMLGSG-NH ₂	2601,1
	531.	Ac-PEG ₁ -SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2520,8
50	532.	Ac-PEG ₂ -SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2823,2
	533.	Ac-PEG ₃ -SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3125,6
	534.	Ac-PEG ₄ -SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3427,9
	535.	Ac-PEG ₅ -SNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3730,3
55	536.	Ac-PEG ₁ -TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2191,5
	537.	Ac-PEG ₂ -TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2493,9
	538.	Ac-PEG ₃ -TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	2796,3
	539.	Ac-PEG ₄ -TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3098,6
60	540.	Ac-PEG ₅ -TRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3401,0
	541.	Ac-PEG ₁ -LESTRRMLQLVEE-NH ₂	1947,2
	542.	Ac-PEG ₂ -LESTRRMLQLVEE-NH ₂	2249,6
	543.	Ac-PEG ₃ -LESTRRMLQLVEE-NH ₂	2552,0
65	544.	Ac-PEG ₄ -LESTRRMLQLVEE-NH ₂	2854,3

545.	Ac-PEG ₅ -LESTRRMLQLVEE-NH ₂	3156,7
546.	Ac-PEG ₁ -NKDMKEAEKNLT-NH ₂	1764,0
547.	Ac-PEG ₂ -NKDMKEAEKNLT-NH ₂	2066,4
548.	Ac-PEG ₃ -NKDMKEAEKNLT-NH ₂	2368,8
549.	Ac-PEG ₄ -NKDMKEAEKNLT-NH ₂	2671,1
550.	Ac-PEG ₅ -NKDMKEAEKNLT-NH ₂	2973,5
551.	Ac-PEG ₁ -IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3208,6
552.	Ac-PEG ₂ -IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3511,0
553.	Ac-PEG ₃ -IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	3813,4
554.	Ac-PEG ₄ -IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	4115,7
555.	Ac-PEG ₅ -IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG-NH ₂	4418,1

Ejemplo 6

Ensayo de la actividad de los péptidos derivados de la proteína SNAP-25 modificados químicamente de manera irreversible sobre la exocitosis neuronal de [³H]-L-Glutamato

Para determinar si los péptidos de la invención inhiben la exocitosis neuronal de neurotransmisores se siguió su actividad sobre la liberación del neurotransmisor L-glutamato de cultivos primarios de neuronas de hipocampo de rata. La exocitosis de este neurotransmisor en cultivos neuronales puede conseguirse mediante despolarización eléctrica de las células. Los cultivos primarios de hipocampo embrionario de rata se preparan mediante métodos convencionales [Blanes-Mira C., Merino J.M., Valera E., Fernández-Ballester G., Gutiérrez L.M., Viniestra S., Pérez-Payá E. y Ferrer-Montiel A. "Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis" *J. Neurochem.* 88, 124-135] y se mantienen en cultivo durante 14 días en incubador a 37°C y 5% CO₂. Los cultivos se incuban con [³H]-L-glutamato para cargarlos de [³H]-L-glutamato durante 3 h a 37°C. Posteriormente, se lava el exceso de [³H]-L-glutamato, y se incuban con 0.1 mM de los péptidos a estudiar durante 1 h a 37°C. La liberación de [³H]-L-glutamato se realiza mediante despolarización con 75 mM KCl y 2 mM CaCl₂ tamponado en tampón fisiológico durante 10 min a 37°C. Se recoge el medio de cultivo y se cuantifica la cantidad de [³H]-L-glutamato en un contador de radioactividad beta. Los resultados se normalizan con respecto a la liberación de [³H]-L-glutamato en ausencia del péptido y se corrige de la liberación basal en ausencia de calcio.

Ejemplo 7

Preparación de una composición cosmética conteniendo CH₃-(CH₂)₁₄-CO-Glu-Glu-Met-Gln Arg-Arg-CONH₂

La siguiente formulación fue preparada según se describe en la presente invención:

En un reactor suficientemente grande se pesan los componentes de la Fase A y se calienta la mezcla a 80°C para fundir las ceras. En un recipiente adecuado para todo el contenido se pesan los componentes de la Fase B y se calientan a 70°C. Se adiciona la Fase A sobre la Fase B lentamente y bajo intensa agitación, y posteriormente se adiciona la Fase C a la mezcla anterior bajo agitación. Acabada la adición, se deja enfriar con agitación suave y cuando la mezcla se encuentra a temperatura ambiente se añade una solución acuosa de CH₃-(CH₂)₁₄-CO-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-CONH₂ y la lecitina, se homogeneiza y corrige el pH con trietanolamina si es necesario.

La crema que se obtiene tiene un pH entre 6 y 7 y una viscosidad de 10.000-15.000 cps (6/50).

ES 2 322 882 B1

	INGREDIENTE (Nomenclatura INCI)	% EN PESO
5	<i>FASE A</i>	
	MINERAL OIL	8.0
	STEARIC ACID	2.4
	CETEARYL ALCOHOL	1.6
	BEESWAX	0.8
10	<i>FASE B</i>	
	GLYCERIN	2.4
	AQUA (WATER)	63.4
	<i>FASE C</i>	
15	CARBOMER	0.3
	TRIETHANOLAMINE	0.9
	<i>FASE D</i>	
	AQUA (WATER)	15.0
20	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-CONH ₂ (0.05%)	5.0
	LECITHIN	0.4

Ejemplo 8

Preparación de liposomas conteniendo CH₃-(CH₂)₁₄-CO-ELEEMQRRADQLA-NH₂

Se pesa dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y se disuelve en cloroformo. El disolvente se evapora al vacío hasta obtener una fina capa de fosfolípido, y esta capa se hidrata por tratamiento a 55°C con una solución acuosa que contiene el péptido a la concentración deseada (conteniendo Phenonip®), obteniendo los liposomas mLV. Los liposomas ULV se obtienen sumergiendo los liposomas mLV en un baño de ultrasonidos a 55°C durante 8 ciclos de 2 min en intervalos de 5 min.

	INGREDIENTE	% EN PESO
35	DIPALMITOILFOSFATIDILCOLINA	4.0
40	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CO-ELEEMQRRADQLA-NH ₂	0.2
	PHENONIP®	0.5

Según un primer aspecto, la presente invención se refiere a un péptido de fórmula general (I):



sus estereoisómeros, sus sales cosméticamente y farmacéuticamente aceptables y mezclas de los mismos, donde: AA es una secuencia de 3 a 40 aminoácidos adyacentes contenida en la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 1; R₁ se selecciona del grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, araiquilo o acilo; y R₂ se selecciona del grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, sustituidos o no con grupos alifáticos o cíclicos, con la condición de que cuando R₁ es H o acetilo, R₂ no es amino, hidroxilo o tiol no sustituidos.

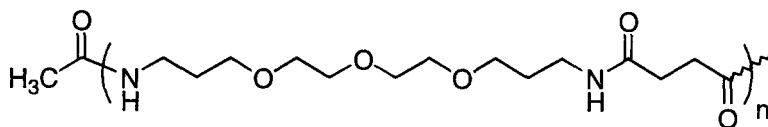
Según un segundo aspecto importante, en el péptido de fórmula general (I) de forma preferida R₁ es acilo de C₃ a C₂₄, lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado. De forma preferente R₁ es acilo de fórmula CH₃-(CH₂)_m-CO-, donde m puede variar entre 1 y 22.

Según otro aspecto importante de la invención en el péptido de fórmula general (I) de forma preferida R₁ es un polímero de polietilenglicol.

Según otro aspecto importante de la invención en el péptido de fórmula general (I) de forma preferida R₁ es un polímero de polietilenglicol con un peso molecular comprendido entre 200 y 35.000 daltons.

ES 2 322 882 B1

Según otro aspecto importante de la invención en el péptido de fórmula general (I) de forma preferida R₁ es un polímero de polietilenglicol de fórmula



donde n puede variar entre 1 y 100. En un aspecto preferido de la invención, n puede variar entre 1 y 5.

Según un aspecto importante de la invención en el péptido de fórmula general (I) de forma preferida R₂ es amino o hidroxilo, sustituidos o no con grupos alifáticos de C₁ a C₂₄ lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados.

Según un aspecto importante de la invención en el péptido de fórmula general (I) de forma preferida AA consiste en una secuencia de 3 a 40 aminoácidos adyacentes contenida en una secuencia seleccionada del grupo formado por las secuencias de aminoácidos MAEDADMRNELEEMQRRADQL, ADESLESTRMLQLVEESKDAGI, ELEEMQRRADQLA, ELEEMQRRADQL, ELEEMQRRADQ, ELEEMQRRAD, ELEEMQRRRA, ELEEMQRR, LEEMQRRADQL, LEEMQRRADQ, LEEMQRRAD, LEEMQRRRA, LEEMQRR, EEMQRRADQL, EEMQRRADQ, EEMQRRAD, EEMQRRRA, EEMQRR, LESTRRMLQLVEE, NKDMKEAEKHLT, KNLTDL, IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG, SNKTRIDEANQRATKMLGSG, TRIDEANQRATKMLGSG, DEANQRATKMLGSG, NQRATKMLGSG y QRATKMLGSG.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un péptido de fórmula general (I), que se basa en síntesis de péptidos en fase sólida.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un péptido de fórmula general (I), que emplea grupos protectores seleccionados del grupo formado por Fmoc/tButilo, Fmoc/trilito y Fmoc/alilo.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que comprende una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz de al menos un péptido de fórmula (I) y al menos un excipiente o adyuvante cosmética o farmacéuticamente aceptable.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que comprende al menos un péptido de fórmula general (I) incorporado a un vehículo y/o sistema de liberación sostenida cosméticamente o farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo formado por liposomas, micicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, vesículas, micelas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, lipoesferas, microemulsiones, nanoemulsiones, milipartículas, micropartículas y nanopartículas.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que comprende al menos un péptido de fórmula general (I) adsorbido sobre un polímero orgánico sólido o soporte mineral seleccionado del grupo formado por talco, bentonita, sílice, almidón y maltodextrina.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se presenta en una formulación seleccionada del grupo formado por cremas, emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, linimentos, sueros, jabones, ungüentos, mousses, pomadas, barras, lápices y vaporizadores.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado en soportes sólidos seleccionados del grupo formado por toallitas, hidrogeles, parches adhesivos, parches no adhesivos y mascarillas faciales.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado en tejidos, preferentemente en forma de vendas.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que contiene un péptido de fórmula general (I) incorporado en productos de línea de maquillaje seleccionados del grupo formado por correctores de ojeras, fondos de maquillaje, lociones y leches desmaquillantes, sombras de ojos y barras de labios.

Según otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que contiene un péptido de fórmula general (I) en una concentración entre el 0.00000001% (en peso) y el 20% (en peso).

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) de forma preferida se encuentra a una concentración entre el 0.0001% y el 5% en peso.

ES 2 322 882 B1

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que comprende una cantidad adicional cosmética o farmacéuticamente eficaz de un agente activo seleccionado del grupo formado por un agente exfoliante, un agente hidratante, un agente despigmentante o blanqueante, un agente propigmentante, un agente antiarrugas, un agente capaz de reducir o eliminar las bolsas bajo los ojos, un agente antioxidante, un agente antiglicación, un inhibidor de la NO-sintasa, un agente anti-envejecimiento, un agente estimulador de la síntesis de moléculas dérmicas o epidérmicas y/o para prevenir su degradación, un agente estimulador de la proliferación de fibroblastos y/o queratinocitos o para estimular la diferenciación de queratinocitos, un agente dermorelajante, un agente reafirmante, un agente anti-contaminación atmosférica y/o anti-radicales libres, un agente que actúe sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, un agente calmante, un agente antiinflamatorio, un agente que actúe sobre el metabolismo de las células, un agente fotoprotector, de naturaleza orgánica o mineral, activo contra los rayos ultravioleta A y/o B, y mezclas de ellos. De forma preferente el agente activo es de origen sintético o un extracto vegetal o proviene de biofermentación.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere a una composición cosmética o farmacéutica en la que el agente antiarrugas y/o anti-envejecimiento se selecciona del grupo formado por Argireline[®], Leuphasyl[®], Decorinyl[®], Decorinol[®], Lipochroman[®] y Aldenine[®], comercializados por Lipotec.

Según un aspecto importante, la presente invención se refiere al uso de un péptido de fórmula (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que regula la exocitosis neuronal.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere al uso de un péptido de fórmula (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la elaboración de una una composición cosmética o farmacéutica para el tratamiento, limpieza y cuidado de la piel.

Según un aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales y/o la asimetría facial.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión mediante aplicación tópica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión mediante aplicación por iontoforesis en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión mediante aplicación por inyección subcutánea o intradérmica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

Según otro aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina la espasticidad muscular.

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un péptido de fórmula general (I)



sus estereoisómeros, mezclas de los mismos, y sus sales cosméticamente y farmacéuticamente aceptables, **caracterizado** porque

AA es una secuencia de 3 a 40 aminoácidos adyacentes contenida en la secuencia de aminoácidos SEQ ID No. 1;

R_1 se selecciona del grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo;

y R_2 se selecciona del grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, sustituidos o no con grupos alifáticos o cíclicos, con la condición de que cuando R_1 es H o acetilo, R_2 no es amino, hidroxilo o tiol no sustituidos.

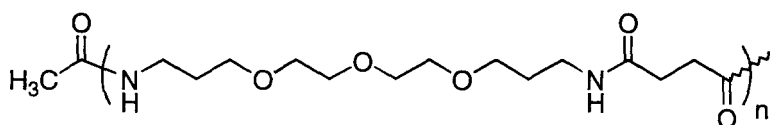
2. Péptido según la reivindicación 1 **caracterizado** porque R_1 es acilo de C_3 a C_{24} , lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado.

3. Péptido según la reivindicación 2 **caracterizado** porque R_1 es acilo de fórmula $CH_3-(CH_2)_m-CO-$, donde m puede variar entre 1 y 22.

4. Péptido según la reivindicación 1 **caracterizado** porque R_1 es un polímero de polietilenglicol.

5. Péptido según la reivindicación 4 **caracterizado** porque dicho polímero de polietilenglicol tiene un peso molecular comprendido entre 200 y 35.000 daltons.

6. Péptido según la reivindicación 5 **caracterizado** porque dicho polímero de polietilenglicol es



donde n puede variar entre 1 y 100.

7. Péptido según la reivindicación 6 **caracterizado** porque n varía entre 1 y 5.

8. Péptido según la reivindicación 1 **caracterizado** porque R_2 es amino o hidroxilo, sustituidos o no con grupos alifáticos de C_1 a C_{24} lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados.

9. Péptido según la reivindicación 1 **caracterizado** porque AA es una secuencia de aminoácidos adyacentes contenida en una secuencia seleccionada del grupo formado por MAEDADMRNELEEMQRRADQL, ADESLES TRRMLQLVEESKDAGI, ELEEMQRRADQLA, ELEEMQRRADQL, ELEEMQRRADQ, ELEEMQRRAD, ELEEMQRRRA, ELEEMQRR, LEEMQRRADQL, LEEMQRRADQ, LEEMQRRAD, LEEMQRRRA, LEEMQRR, EEMQRRADQL, EEMQRRADQ, EEMQRRAD, EEMQRRRA, EEMQRR, LESTRRMLQLVEE, NKDMKEAEKN LT, KNLTDL, IMEKADSNKTRIDEANQRATKMLGSG, SNKTRIDEANQRATKMLGSG, TRIDEANQRATKMLG SG, DEANQRATKMLGSG, NQRATKMLGSG y QRATKMLGSG.

10. Procedimiento de obtención de un péptido de fórmula general (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado** porque se realiza en fase sólida.

11. Procedimiento de obtención de un péptido de fórmula general (I), según la reivindicación 10, **caracterizado** porque emplea grupos protectores seleccionados del grupo formado por Fmoc/tButilo, Fmoc/tritilo y Fmoc/alilo.

12. Composición cosmética o farmacéutica que comprende una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz de al menos un péptido de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 **caracterizada** porque comprende al menos un excipiente o adyuvante cosmética o farmacéuticamente aceptable.

13. Composición cosmética o farmacéutica según la reivindicación 12, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado a un vehículo o a un sistema de liberación sostenida cosmética o farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo formado por liposomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, vesículas, micelas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, lipoesferas, microemulsiones, nanoemulsiones, milipartículas, micropartículas y nanopartículas.

ES 2 322 882 B1

14. Composición cosmética o farmacéutica según la reivindicación 12, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra adsorbido sobre un polímero orgánico o soporte sólido mineral cosméticamente o farmacéuticamente aceptable seleccionado del grupo formado por talco, bentonita, sílice, almidón o maltodextrina.
- 5 15. Composición cosmética o farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, **caracterizada** porque presenta una formulación seleccionada del grupo formado por cremas, emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, linimentos, sueros, jabones, ungüentos, mousses, pomadas, barras, lápices y vaporizadores.
- 10 16. Composición cosmética o farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado en soportes sólidos seleccionados del grupo formado por toallitas, hidrogeles, parches adhesivos, parches no adhesivos y mascarillas faciales.
- 15 17. Composición cosmética o farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado en productos de línea de maquillaje seleccionados del grupo formado por correctores de ojeras, fondos de maquillaje, lociones desmaquillantes, leches desmaquillantes, sombras de ojos y barras de labios.
- 20 18. Composición cosmética o farmacéutica, según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado en tejidos.
- 25 19. Composición cosmética o farmacéutica, según la reivindicación 18, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra incorporado en vendas.
- 30 20. Composición cosmética o farmacéutica que comprende una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz de al menos un péptido de fórmula general (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra a una concentración entre el 0.00000001% y el 20% en peso.
- 35 21. Composición cosmética o farmacéutica, según la reivindicación 20, **caracterizada** porque el péptido de fórmula general (I) se encuentra a una concentración entre el 0.0001% y el 5% en peso.
- 40 22. Composición cosmética o farmacéutica que comprende una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz de al menos un péptido de fórmula general (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizada** porque comprende una cantidad adicional cosmética o farmacéuticamente eficaz de un agente activo seleccionado del grupo formado por un agente exfoliante, un agente hidratante, un agente despigmentante o blanqueante, un agente propigmentante, un agente anti-estrías, un agente antiarrugas, un agente antioxidante, un agente antiglicación, un inhibidor de la NO-sintasa, un agente anti-envejecimiento, un agente capaz de reducir o eliminar las bolsas bajo los ojos, un agente estimulador de la síntesis de moléculas dérmicas o epidérmicas y/o para prevenir su degradación, un agente estimulador de la proliferación de fibroblastos y/o queratinocitos o para estimular la diferenciación de queratinocitos, agente destinados a mejorar la unión dermis-epidermis, un agente dermorelajante, un agente reafirmante, un agente anti-contaminación atmosférica y/o anti-radicales libres, un agente que actúe sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, un agente calmante, un agente antiinflamatorio, un agente antimicrobiano, un agente antifúngico, un agente que actúe sobre el metabolismo de las células, un agente que actúe sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, vitaminas, un agente quelante, un agente fotoprotector, de naturaleza orgánica o mineral, activo contra los rayos ultravioleta A y/o B, o mezclas de ellos.
- 45 23. Composición cosmética o farmacéutica, según la reivindicación 22, **caracterizada** porque el agente activo es de origen sintético o un extracto vegetal o proviene de biofermentación.
- 50 24. Composición cosmética o farmacéutica, según la reivindicación 22, **caracterizada** porque el agente antiarrugas y/o antienvjecimiento se selecciona del grupo formado por Argireline[®], Leuphasyl[®], Decorinyl[®], Decorinol[®], Lipochroman[®] y Aldenine[®].
- 55 25. Uso de un péptido de fórmula general (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica para el tratamiento de aquellas condiciones de los mamíferos que requieran la regulación de la excitosis neuronal.
- 60 26. Uso de un péptido de fórmula general (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica para el tratamiento, limpieza o cuidado de la piel.
- 65 27. Uso del péptido de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales y/o la asimetría facial.
28. Uso del péptido de fórmula general (I) según la reivindicación 27 en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión.
29. Uso del péptido de fórmula general (I) según reivindicación 28 en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión mediante aplicación en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

ES 2 322 882 B1

30. Uso del péptido de fórmula general (I) según la reivindicación 28 en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión mediante aplicación por iontoforesis en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

5 31. Uso del péptido de fórmula general (I) según reivindicación 28 en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales de expresión mediante aplicación por inyección subcutánea o intradérmica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

10 32. Uso del péptido de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la elaboración de una composición cosmética o farmacéutica que reduce y/o elimina la espasticidad muscular.

15

20

25

30

35

40

45

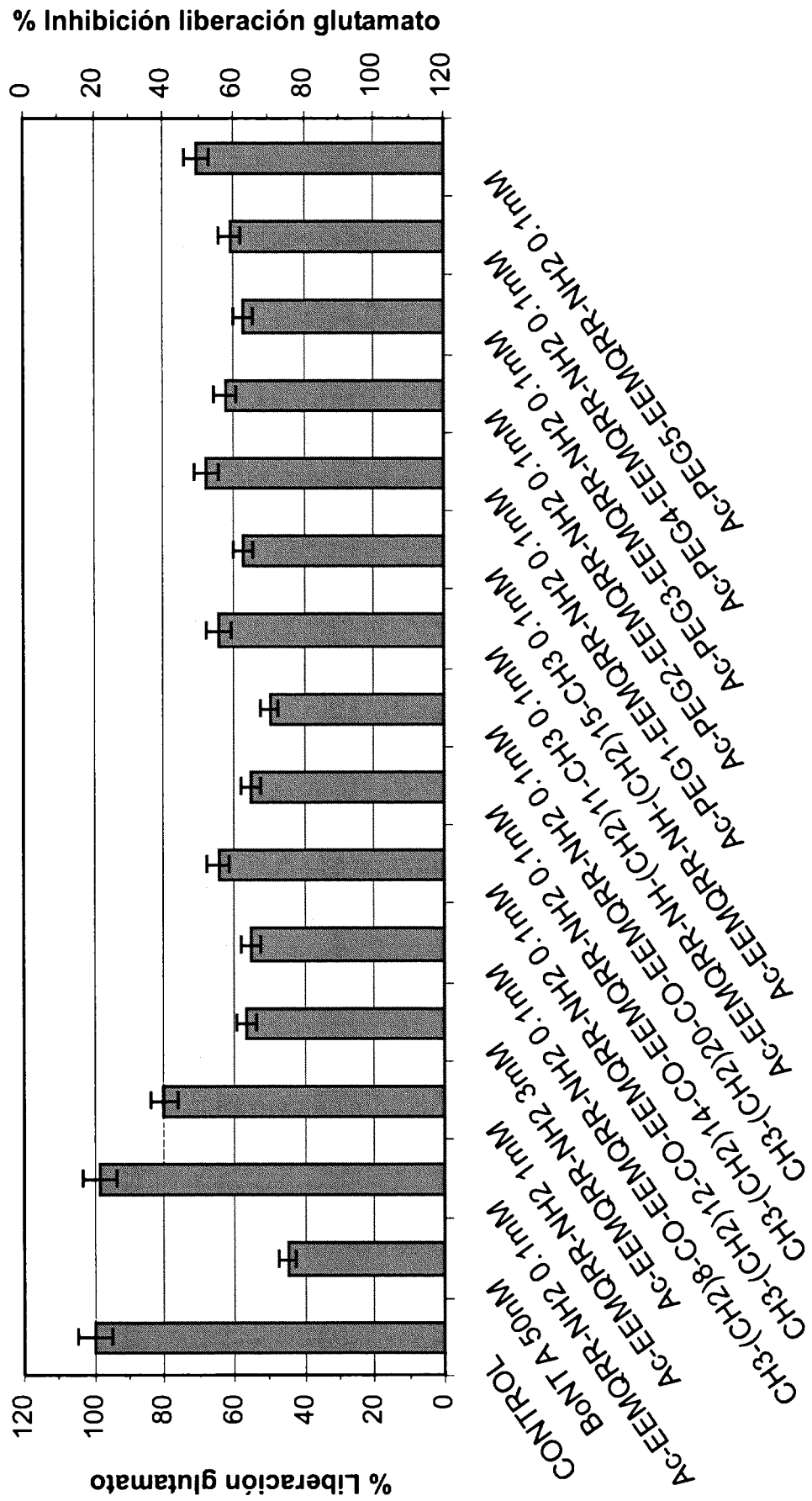
50

55

60

65

Inhibición de la excitosis neuronal





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 322 882

② Nº de solicitud: 200602720

③ Fecha de presentación de la solicitud: 25.10.2006

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	FERRER-MONTIEL, A.V. et al. "The 26-mer peptide released from SNAP-25 cleavage by botulinum neurotoxin E inhibits vesicle docking". FEBS LETTERS. 1998. Vol. 435, Nº. 1, páginas 84-88 todo el documento.	1-32
Y	GUTIÉRREZ, L.M. et al. "A peptide that mimics the carboxy-terminal domain of SNAP-25 blocks Ca ²⁺ -dependent exocytosis in chromaffin cells". FEBS LETTERS. 1995. Vol. 372, Nº. 1, páginas 39-43; todo el documento.	1-32
Y	BLANES-MIRA, C. et al. "Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis". JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY. 2004. Vol. 88, Nº. 1, páginas 124-135; todo el documento.	1-32
Y	EP 1180524 A1 (LIPOTEC, S.A.) 20.02.2002, todo el documento.	1-32
Y	CHICHARRO, C. et al. "N-terminal fatty acid substitution increases the leishmanicidal activity of CA(1-7)M(2-9), a Cecropin-Melittin hybrid peptide". ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. 01.09.2001. Vol. 45, Nº. 9, páginas 2441-2449; todo el documento.	1-32
Y	TSUTSUMI, Y. et al. "Site-specific chemical modification with polyethylene glycol of recombinant immunotoxin anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) improves antitumor activity and reduces animal toxicity and immunogenicity". PNAS. 18.07.2000. Vol. 97, Nº. 15, páginas 8548-8553; todo el documento.	1-32

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

05.02.2008

Examinador

M. Novoa Sanjurjo

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C07K 14/705 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)