



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

06-21510

54. TÍTULO

PEPTIDOS Y COMPUESTOS QUE SE UNEN A UN RECEPTOR.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61K38/03, C07K7/00, A61P7/00

71. SOLICITANTE

ORTHO-MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC.

DOMICILIO

RARITAN, NEW JERSEY, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO

JIMENA ESCOBAR URIBE

22. BOGOTÁ, D. C.,

Marzo 3-2006



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO

Radicación: 00021510 00000000

Fecha (GMB): 2006-03-03 16:11:04

Procedimiento: 001 PCT-ARIENT 370 FASE NDCI 411 PRESENTAC

Dependencia: 2006 DIVISION DE MARCAS Y DISEÑOS

Folios: 109

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT**

ENTRADA EN FASE NACIONAL 28.03-2006

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **Ortho-McNeil Pharmaceutical, Inc.**

Dirección: **U.S. Route 202, P.O. Box 300,
Raritan, New Jersey 08869-0602,
Estados Unidos de América.**

Nacionalidad o Domicilio: **Raritan, New
Jersey, Estados Unidos de América.**

Lugar de Constitución: **Delaware, Estados
Unidos de América**

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: **JIMENA ESCOBAR URIBE**

Dirección: **Cra. 11A No. 94-76 (Of. 305)**

Teléfono: **6 162051/81** Fax: **6 161889**

E-mail: **tm-patent@escobaruribe.com**

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número **39.779.452 T.P.68.228**

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: **VER ANEXOS**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/US2004/026422** Fecha **13 de agosto de 2004**

Publicación Internacional No. **WO 2005/023834 A3** Fecha **17 de marzo de 2005**

6

TÍTULO (54) PEPTIDOS Y COMPUESTOS QUE SE UNEN A UN RECEPTOR. ver folio 113

7

Clasificación Internacional (51)

A61K 38/03, C07K 71/00, A61P 7/00

8

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

Estados Unidos de América

(32) Fecha

28 de agosto de 2003

(31) Número de Solicitud

60/498.740

9

Comprobante de pago No. 06 - 14.882

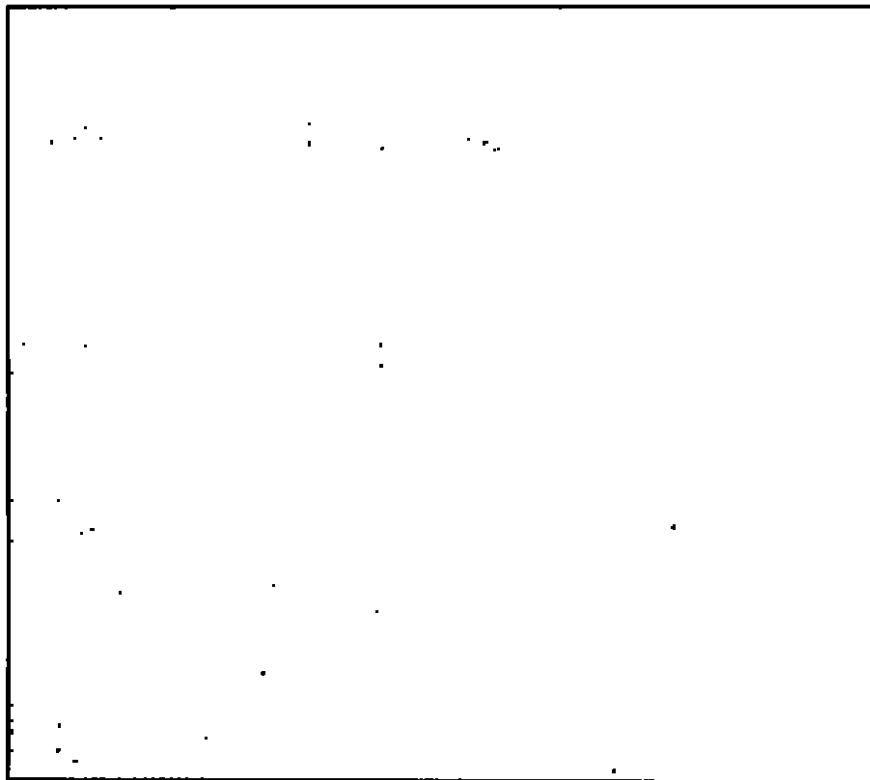
Fecha 22 de febrero de 2006

10

ANEXOS

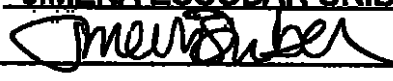
- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso * Protocolo No. 19.164
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros " Notificación de un cambio".

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBE

FIRMA: 

C.C. 39.779.452 de Usaquén T.P. 68.228

2943/PCT

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicacion: 00021518 00000000 Folios: 104
 Fecha (HH): 2006-03-03 16:17:04
 Remite: 011 PCT-PARENT 378 FREE WCT 411 PRESENTAC
 Dependencia: 0200 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

MIT : 000174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 14,082
FECHA : FEBRERO 22 DE 2006

CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ESCOBAR URIBE ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	10659366	21/02/2006	7,631,000.00

C O N C E P T

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRANITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	443,000.00
		TOTAL :	\$ 443,000.00

SOM: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

ANEXOS**INVENTORES**

- 1.) **MACDONALD, Brian, R.**
(280 South Roberts Road, Bryn Mawr, Pennsylvania 19010, Estados Unidos de América);
- 2.) **WEIS, Jeffery, Kenneth**
(106 South Honeyman Road, Whitehouse Station, New Jersey 08889, Estados Unidos de América);
- 3.) **YURKOW, Edward, John**
(123 Woods Road, Hillsborough, New Jersey 08844, Estados Unidos de América).

Solicito expresamente a nombre de la sociedad
ORTHO-MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC,
sociedad constituida de conformidad con las leyes del
estado de Delaware, Estados Unidos de América,
domiciliada en U.S. Route 202, P.O.Box 300, Raritan,
New Jersey 08869-0602, Estados Unidos de América,
el otorgamiento de Patente para la invención titulada
**"PEPTIDOS Y COMPUESTOS QUE SE UNEN A UN
RECEPTOR" .**

Clase: A61K 38/03



JIMENA ESCOBAR URIBE

C.C. 39.779.452 de Usaquen.

T.P. 68.228

RESUMEN DE LA INVENCION

Se describen péptidos y compuestos que se unen a, y activan el receptor de la trombopoyetina (c-mpl o TPO-R) o actúan de otra manera como un antagonista de la TPO.

10

15

20

DH

P06/199F

PEPTIDOS Y COMPUESTOS QUE SE UNEN A UN RECEPTOR**REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS**

- 5 Esta solicitud reclama la prioridad de la Solicitud de E.U.A. No. de Serie 60/498,740, presentada en Agosto 28, del 2003.

CAMPO DE LA INVENCION

- 10 La presente invención proporciona compuestos peptídicos que se unen a, y activan el receptor de la trombopoyetina (c-mpl o TPO-R), o actúan de otra manera como un agonista de la TPO. La invención tiene aplicación en los campos de la bioquímica y la química medicinal y particularmente proporciona agonistas de la TPO para utilizarse en el
- 15 tratamiento de la enfermedad humana.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 20 Los megacariocitos son células derivadas de la médula ósea, que son responsables de producir las plaquetas que circulan en la sangre. Aunque comprenden <0.25% de las células de médula ósea en la mayoría de las especies, tienen >10 veces el volumen de las células de médula típicas. Véase, Kuter, et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:11104-11108 (1994). Los

megacariocitos experimentan un proceso conocido como endomitosis, mediante el cual replican sus núcleos, pero fallan en experimentar la división celular y por lo tanto dan lugar a células poliploides. En respuesta a un conteo disminuido de plaquetas, la velocidad endomitótica se incrementa, se forman

5 megacariocitos con mayor ploidia, y el número de megacariocitos puede incrementarse hasta 3 veces. Véase, Harker, J. Clin. Invest., 47:458-465 (1968). En contraste, en respuesta a un elevado conteo de plaquetas, la velocidad endomitótica disminuye, se forman megacariocitos con menos ploidia, y el número de megacariocitos puede disminuir en un 50%.

10 El mecanismo exacto de la retroalimentación fisiológica mediante el cual la masa de plaquetas circulantes regula la velocidad endomitótica y el número de megacariocitos de médula ósea, no se conoce. Se piensa ahora que el factor trombopoyético circulante involucrado en mediar este ciclo de retroalimentación, es la trombopoyetina (TPO). Más específicamente, la TPO

15 ha mostrado ser el regulador humoral principal en situaciones que involucran trombocitopenia. Véase, por ejemplo, Metcalf, Nature, 369:519-520 (1994). La TPO se ha conocido en varios estudios por incrementar los conteos de plaquetas, incrementar el tamaño de las plaquetas e incrementar la incorporación del isótopo en plaquetas de animales receptores.

20 Específicamente, se piensa que la TPO afecta la megacariocitopoyesis de varias maneras: (1) produce incrementos en el tamaño y número del megacariocito; (2) produce un incremento en el contenido de ADN, en la forma de poliploidia en los megacariocitos; (3) incrementa la endocitosis del

megacariocito; (4) produce una maduración incrementada de megacariocitos; y (5) produce un incremento en el porcentaje de células precursoras, en la forma de células pequeñas positivas a acetilcolinesterasa, en la médula ósea.

Las plaquetas (trombocitos), son necesarias para la coagulación sanguínea. Cuando su número es muy bajo, un paciente está en serio riesgo de muerte por una hemorragia catastrófica. Por lo tanto, la TPO tiene una aplicación útil potencial tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de varios trastornos hematológicos, por ejemplo, enfermedades debidas principalmente a defectos en las plaquetas. Los ensayos clínicos en curso con TPO, han indicado que la TPO puede administrarse de manera segura a los pacientes. Además, los estudios más recientes han proporcionado una base para la proyección de la eficacia de la terapia con TPO en el tratamiento de trombocitopenia, y particularmente trombocitopenia que resulta de quimioterapia, terapia con radiación o trasplante de médula ósea como un tratamiento para el cáncer o linfoma. Véase, por ejemplo, McDonald, Am. J. Ped. Hematology/Oncology, 14:8-21 (1992).

El gen que codifica la TPO se ha clonado y caracterizado. Véase, Kuter, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:11104-11108 (1994); Barley, et al., Cell 77:1117-1124 (1994); Kaushansky et al., Nature 369:568-571 (1994); Wendling, et al., Nature, 369:571-574 (1994); y Sauvage et al., Nature 369: 533-538 (1994). La trombopoyetina es una glucoproteína con al menos dos formas, con masas moleculares aparentes de 25 kDa y 31 kDa, con una secuencia de aminoácidos N terminal común. Véase, Bartley, et al.,

Cell, 77:1117-1124 (1994). La trombopoyetina parece tener dos regiones distintas separadas por un sitio de escisión Arg-Arg potencial. La región amino terminal está altamente conservada en el hombre y el ratón, y tiene alguna homología con la eritropoyetina y el interferón a y el interferón b. La

5 región carboxi terminal muestra amplia divergencia entre las especies.

Se han descrito las secuencias de ADN y las secuencias peptídicas codificadas para el TPO-R humano (también conocido como c-mpl). Véase, Vigon, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 5640-5644 (1992). El TPO-R es un miembro de la familia del receptor del factor de crecimiento de

10 la hematopoyetina, una familia caracterizada por un diseño estructural común del dominio extracelular, que incluye cuatro residuos C conservados N terminal y un motivo WSXWS (SEQ ID NO: 1), cercano a la región transmembranal. Véase, Bazan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6934-6938 (1990). La evidencia de que este receptor juega un papel funcional en la

15 hematopoyesis, incluye observaciones de que su expresión está restringida al bazo, médula ósea o al hígado fetal en ratones (véase, Souyri, et al., Cell 63:1137-1147 (1990)) y a los megacariocitos, plaquetas y células CD34+ en humanos (véase, Methia, et al., Blood 82:1395-1401 (1993)). Además, la exposición de las células CD34+ a los oligonucleótidos sintéticos antisentido al

20 ARN mpl inhibe de manera significativa la aparición de colonias de megacariocitos sin afectar la formación de colonias eritroides o mieloides. Algunos trabajadores postulan que el receptor funciona como un homodímero, similar a la situación con los receptores para G-CSF y eritropoyetina.

La disponibilidad de los genes clonados para el TPO-R, facilita la búsqueda de agonistas de este importante receptor. La disponibilidad de la proteína receptora recombinante, permite el estudio de la interacción receptor-ligando, en una variedad de sistemas de generación de diversidad peptídica aleatorios y semialeatorios. Estos sistemas se describen en las Patentes de E.U.A. Nos. 6,251,864, 6,083,913, 6,121,238, 5,932,546, 5,869,451, 6,506,362 y 6,465,430, y en Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6378-6382 (1990), cada una de las anteriores se incorpora en la presente como referencia.

La recuperación lenta de los niveles de plaquetas en pacientes que sufren de trombocitopenia es un problema serio, y ha dado urgencia a la investigación de un agonista del factor de crecimiento sanguíneo, capaz de acelerar la regeneración de las plaquetas. La presente invención proporciona tal agonista.

15

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

La presente invención está dirigida a compuestos peptídicos definidos de bajo peso molecular que tienen fuertes propiedades de unión al TPO-R, pueden activar el TPO-R, y permiten potencialmente efectos laterales reducidos en comparación con los agonistas conocidos de la TPO. En consecuencia, los compuestos peptídicos pueden ser útiles para propósitos terapéuticos para tratar condiciones mediadas por la TPO (por ejemplo,

20

trombocitopenia que resulta de la quimioterapia, terapia con radiación o transfusiones de médula ósea), así como para propósitos de diagnóstico en estudiar el mecanismo de la hematopoyesis y para la expansión in vitro de los megacariocitos y las células progenitoras comprometidas.

- 5 Los compuestos peptídicos adecuados para propósitos terapéuticos y/o de diagnóstico, tienen una CI_{50} de aproximadamente 2 mM o menos, como se determina, por ejemplo, mediante el ensayo de afinidad de la unión expuesto en el Ejemplo 3 de la Patente de E.U.A. No. 5,869,451, en donde una CI_{50} se correlaciona con una afinidad de unión más fuerte al TPO-
- 10 R. El ensayo en la Patente de E.U.A. No. 5,869,451 es como sigue: Las afinidades de unión de los compuestos peptídicos se miden en un ensayo de unión de competencia. Los pozos de una placa microtituladora se recubren con 1 mg de estreptavidina, se bloquean con PBS/BSA al 1%, seguido por 50 ng del anticuerpo biotinilado que inmoviliza el antirreceptor (Ab179). Los
- 15 pozos se tratan a continuación con una dilución 1:10 de recolección de TPO-R soluble. Varias concentraciones del compuesto peptídico se mezclan con una cantidad constante de una forma trunca de TPO que consiste de los residuos 1-156 fusionados al término C de la proteína de unión a la maltosa (MBP-TPO₁₅₆). Las mezclas del péptido MBP-TPO₁₅₆, se agregan a las células
- 20 recubiertas con TPO-R, se incuban durante 2 horas a 4°C y a continuación se lavan con PBS. La cantidad de MBP-TPO₁₅₆ que se une al equilibrio, se mide agregando un antisuero de conejo dirigido contra MBP, seguido por la IgG anticonejo de cabra conjugada con fosfatasa alcalina. La cantidad de

fosfatasa alcalina en cada pozo se determina a continuación utilizando métodos estándar. El ensayo se realiza con un intervalo de concentraciones del compuesto peptídico y los resultados se grafican, de manera que el eje y representa la cantidad de MBP-TPO₁₅₆ unida, y el eje x representa la concentración del compuesto peptídico. Uno puede determinar entonces la concentración a la cual el compuesto peptídico reducirá en un 50% (CI₅₀) la cantidad de MBP-TPO₁₅₆ unida al TPO-R inmovilizado. La constante de disociación (Kd) para el péptido debe ser similar a la CI₅₀ medida utilizando estas condiciones de ensayo. Para propósitos farmacéuticos, los compuestos peptídicos tienen, de manera preferida, una CI₅₀ de no más que aproximadamente 100 µM, de manera más preferida, no más que 500 nM. En una modalidad preferida, el peso molecular del compuesto peptídico es de aproximadamente 250 a aproximadamente 8,000 daltons. Si los compuestos peptídicos de esta invención son oligomerizados, dimerizados y/o derivados con un polímero hidrofílico como se describe en la presente, los pesos moleculares de tales compuestos peptídicos serán sustancialmente mayores y pueden variar en cualquier lugar de aproximadamente 500 a aproximadamente 120,000 daltons, de manera más preferida de aproximadamente 8,000 a aproximadamente 80,000 daltons.

Cuando se utilizan para propósitos de diagnóstico, los compuestos peptídicos de la presente invención, de manera preferida, están marcados con una marca detectable, y en consecuencia, los compuestos

peptídicos sin tal marca, sirven como intermediarios en la preparación de compuestos peptídicos marcados.

Un compuesto peptídico que cumple con el criterio definido del peso molecular y la afinidad de unión para el TPO-R, comprende 9 o más aminoácidos, en donde los aminoácidos son aminoácidos naturales o sintéticos (no naturales).

En consecuencia, los compuestos peptídicos preferidos comprenden un compuesto que tiene:

(1) un peso molecular de menos que aproximadamente 5000 daltons, y

(2) una afinidad de unión al TPO-R como se expresa por una Cl_{50} de no más que aproximadamente 100 μM ,

en donde de cero a todos los enlaces $-C(O)NH-$ del compuesto peptídico se han reemplazado por un enlace seleccionado del grupo que consiste de un grupo que consiste de un enlace $-CH_2OC(O)NR-$; un enlace fosfonato; un enlace $-CH_2S(O)_2NR-$; un enlace $-CH_2NR-$; un enlace $-C(O)NR^6-$; y un enlace $-NHC(O)NH-$, en donde R es hidrógeno o alquilo inferior y R^6 es alquilo inferior,

además, en donde el término N del compuesto peptídico se selecciona del grupo que consiste de un grupo $-NRR^1$; un grupo $-NRC(O)R$; un grupo $-NRC(O)OR$; un grupo $-NRS(O)_2R$; un grupo $-NHC(O)NHR$; un grupo succinimida; un grupo benciloxycarbonil-NH-; y un grupo benciloxycarbonil-NH- que tiene de 1 a 3 sustituyentes en el anillo de fenilo, seleccionados del grupo

que consiste de alquilo inferior, alcoxi inferior, cloro y bromo, en donde R y R¹ se seleccionan de manera independiente del grupo que consiste de hidrógeno y alquilo inferior,

y aún además, en donde el término C del compuesto peptídico
5 tiene la fórmula -C(O)R², en donde R² se selecciona del grupo que consiste de hidroxí, alcoxi inferior, y -NR³R⁴, en donde R³ y R⁴ se seleccionan de manera independiente del grupo que consiste de hidrógeno y alquilo inferior, y en donde el átomo de nitrógeno del grupo -NR³R⁴ puede opcionalmente ser el grupo amina del término N del péptido, para formar un péptido cíclico,
10 y sales fisiológicamente aceptables del mismo.

En una modalidad relacionada, la invención está dirigida a un compuesto peptídico marcado, que comprende un compuesto peptídico descrito como en lo anterior, que tiene unido al mismo de manera covalente, una marca capaz de detección.

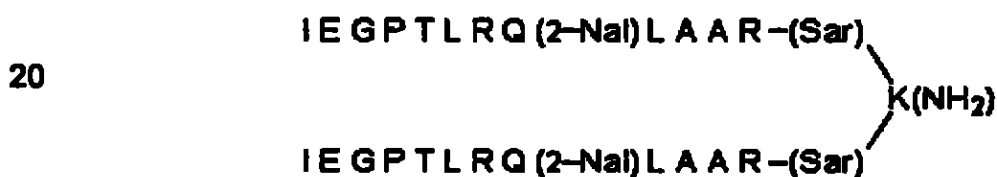
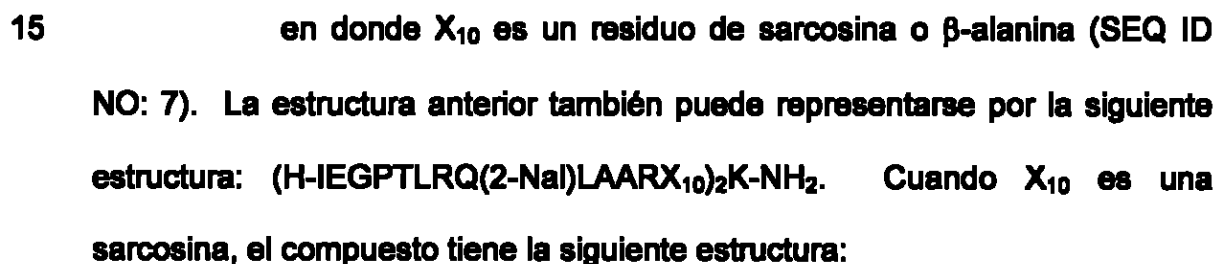
15 En una modalidad, el compuesto peptídico del núcleo comprende una secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 2)



20 en donde X₉ es A, C, E, G, I, L, M, P, R, Q, S, T o V; y X₈ es A, C, D, E, K, L, Q, R, S, T o V; y X₆ es un residuo de β-(2-naftil)alanina (referido en la presente como "2-Nal"). De manera más preferida, X₉ es A o I; y X₈ es D, E o K. Además, X₁ es C, L, M, P, Q, V; X₂ es F, K, L, N, Q, R, S, T o V; X₃

Un compuesto peptídico particularmente preferido incluye la
5 secuencia de aminoácidos I E G P T L R Q (2-Nal) L A A R (Sar) (SEQ ID
NO:7), en donde (2-Nal) es β -(2-naftil)alanina y (Sar) es sarcosina.

10 **peptídico dimerizado incluye, de manera no exclusiva, lo siguiente:**



en donde (2-Nal) es β -(2-naftil)alanina y (Sar) es sarcosina (SEQ ID NO:7). Este compuesto peptídico, el cual también puede representarse por la siguiente estructura (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAAR(Sar)₂K-NH₂), se refiere en la presente como el "Compuesto No. 1 de TPO".

5 En aún otra modalidad adicional, los compuestos peptídicos preferidos para utilizarse en esta invención incluyen compuestos peptídicos que están unidos de manera covalente a uno o más de una variedad de polímeros hidrofílicos. Los polímeros hidrofílicos adecuados incluyen, de manera no exclusiva, éteres de polialquilo como se ejemplifica por el
10 polietilenglicol y el polipropilenglicol, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polioxialquenos, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, celulosa y derivados de celulosa, dextrano y derivados de dextrano, etc., como se describe en la Patente de E.U.A. No. 5,869,451, el contenido total de la cual se incorpora en la presente como referencia.

15 Los compuestos peptídicos descritos en la presente son útiles para la prevención y el tratamiento de enfermedades mediadas por la TPO, y particularmente para tratar trastornos hematológicos, incluyendo, de manera no exclusiva, trombocitopenia que resulta de quimioterapia, terapia con radiación o transfusiones de médula ósea. Así, la presente invención también
20 proporciona un método de tratamiento, en donde un paciente que tiene un trastorno que es susceptible de tratamiento con un agonista de la TPO, recibe o se le administra una dosis terapéuticamente efectiva de un compuesto peptídico de la presente invención.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos peptídicos descritos en la presente y un portador fisiológicamente aceptable. Estas composiciones farmacéuticas pueden estar en una variedad de formas, incluyendo formas de dosificación oral, así como polvos inhalables y soluciones y soluciones inyectables e infundibles.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

10 La Figura 1 muestra y compara la actividad del Compuesto No. 1 de TPO con un compuesto peptídico de la técnica anterior (referido en la presente como "compuesto peptídico de la técnica anterior"). La diferencia entre el Compuesto No. 1 de TPO y el compuesto peptídico de la técnica anterior es que el compuesto peptídico de la técnica anterior tiene una β -(1-naftil)alanina (1-Nal), en donde (2-Nal) está en el Compuesto No. 1 de TPO.

La Figura 2 muestra y compara la actividad del Compuesto No. 1 de TPO PEGilado con el compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior.

La Figura 3 muestra y compara el cambio in vivo en los conteos de plaquetas en ratas, demostrando la potencia relativa del Compuesto No. 1 de TPO PEGilado con el compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior.

Las Figuras 4 y 5 muestran y comparan el número y volumen de plaquetas circulantes de una manera dependiente de la dosis,

respectivamente, tras el uso del compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior y el uso del Compuesto No. 1 de TPO PEGilado.

DESCRIPCION DE LAS MODALIDADES ESPECIFICAS

5

I. Definiciones y parámetros generales

Las siguientes definiciones se exponen para ilustrar y definir el significado y el alcance de los varios términos utilizados para describir la invención de la presente.

10

"Agonista", se refiere a un ligando biológicamente activo que se une a su receptor complementario biológicamente activo y activa el último para causar una respuesta biológica en el receptor o para mejorar la actividad biológica preexistente del receptor.

15

"Compuesto peptídico", se refiere a una molécula que se hidroliza en aminoácidos y/o derivados de aminoácidos y/o sustitutos de aminoácidos.

20

"Sales farmacéuticamente aceptables", se refiere a sales no tóxicas, de metales alcalinos, metales alcalinotérreos y de amonio, utilizadas comúnmente en la industria farmacéutica, incluyendo las sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bario, amonio y protamina de zinc, que se preparan mediante métodos bien conocidos en la técnica. El término también incluye sales de adición de ácido no tóxicas, las cuales se preparan generalmente haciendo reaccionar los compuestos de la invención con un

ácido orgánico o inorgánico adecuado. Las sales representativas incluyen el clorhidrato, bromhidrato, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato, valeriato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, napsilato y lo similar.

- 5 "Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable", se refiere a aquellas sales que retienen la efectividad y las propiedades biológicas de las bases libres y que no son biológicamente o de otra manera indeseables, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y lo similar, y
- 10 ácidos orgánicos tales como el ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido salicílico y lo similar. Para una descripción de
- 15 las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H., supra.

- "Ester farmacéuticamente aceptable", se refiere a aquellos ésteres que retienen, tras la hidrólisis del enlace éster, la efectividad y las propiedades biológicas del ácido carboxílico o el alcohol y que no son
- 20 biológicamente o de otra manera indeseables. Para una descripción de los ésteres farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H., ed., Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1985). Estos ésteres se forman típicamente a partir del ácido carboxílico

correspondiente y un alcohol. Generalmente, la formación del éster puede lograrse vía técnicas sintéticas convencionales. (Véase, por ejemplo, March, Advanced Organic Chemistry, 4a Ed., John Wiley & Sons, New York (1992), 393-396 y las referencias citadas en la misma, y Mark, et al., Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, New York (1980)). El componente de alcohol del éster comprenderá generalmente (i) un alcohol alifático de C_2 - C_{12} que puede o no contener uno o más enlaces dobles y que puede o no contener carbonos ramificados o (ii) alcoholes aromáticos o heteroaromáticos de C_7 - C_{12} . Esta invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son tanto los ésteres como se describen en la presente como las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los mismos, al mismo tiempo.

"Amida farmacéuticamente aceptable", se refiere a aquellas amidas que retienen, tras la hidrólisis del enlace amida, la efectividad y propiedades biológicas del ácido carboxílico o la amina y que no son biológicamente o de otra manera indeseables. Para una descripción de las amidas farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H., ed., Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1985). Estas amidas se forman típicamente a partir del ácido carboxílico correspondiente y una amina. Generalmente, la formación de la amida puede lograrse vía técnicas sintéticas convencionales. (Véase, por ejemplo, March, Advanced Organic Chemistry, 4a Ed., John Wiley & Sons, New York (1992), p. 393 y Mark, et al. Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons,

New York (1980)). Esta invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son tanto amidas como se describen en la presente como las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de las mismas, al mismo tiempo.

5 "Portador farmacéutica o terapéuticamente aceptable", se refiere a un medio portador que no interfiere con la efectividad de la actividad biológica de los ingredientes activos y que no es tóxico al hospedero o al paciente.

"Estereoisómero", se refiere a un compuesto químico que tiene el mismo peso molecular, composición química y constitución que otro, pero con átomos agrupados de manera diferente. Esto es, ciertas porciones químicas idénticas están en orientaciones diferentes en el espacio y, por lo tanto, cuando están puras, tienen la capacidad de girar el plano de la luz polarizada. Sin embargo, algunos estereoisómeros puros pueden tener una rotación
10 óptica que es tan ligera que es indetectable con la instrumentación presente. Los compuestos de la presente invención pueden tener uno más átomos de carbono asimétricos, y por lo tanto, incluir varios estereoisómeros. Todos los estereoisómeros se incluyen dentro del alcance de la invención.

"Cantidad terapéutica o farmacéuticamente efectiva", como se
20 aplica a las composiciones de la presente invención, se refiere a la cantidad de composición suficiente para inducir un resultado biológico deseado. Ese resultado puede ser el alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. En

la presente invención, el resultado involucrará típicamente una disminución en las respuestas inmunológicas y/o inflamatorias a la infección o lesión del tejido.

Los residuos de aminoácido en los péptidos se abrevian como sigue: Fenilalanina es Phe o F; Leucina es Leu o L; Isoleucina es Ile o I; Metionina es Met o M; Valina es Val o V; Serina es Ser o S; Prolina es Pro o P; Treonina es Thr o T; Alanina es Ala o A; Tirosina es Tyr o Y; Histidina es His o H; Glutamina es Gln o Q; Asparagina es Asn o N; Lisina es Lys o K; Acido Aspártico es Asp o D; Acido Glutámico es Glu o E; Cistina es Cys o C; Triptofano es Trp o W; Arginina es Arg o R; y Glicina es Gly o G. Adicionalmente, t-Buo es ter-buliloxi, Bzl es bencilo, CHA es ciclohexilamina, Ac es acetilo, Me es metilo, Pen es penicilamina, Aib es ácido aminoisobutírico, Nva es norvalina, Abu es ácido aminobutírico, Thi es tienilalanina, OBn es O-bencilo y hyp es hidroxiprolina.

Los análogos peptídicos se utilizan comúnmente en la industria farmacéutica como fármacos no peptídicos con propiedades análogas a aquéllas del péptido patrón. Estos tipos de compuestos no peptídicos se denominan "peptidomiméticos" o "miméticos peptídicos" o "peptidomiméticos" (Luthman, et al., A Textbook of Drug Design and Development, 14:386-406, 2a Ed., Harwood Academic Publishers (1996); Joachim Granta, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 33:1699-1720 (1994); Fauchere, J., Adv. Drug Res., 15:29 (1986); Veber y Freidinger TINS, p. 392 (1985); y Evans, et al., J. Med. Chem. 30:1229 (1987), las cuales se incorporan en la presente como referencia).

Los miméticos peptídicos que son estructuralmente similares a los péptidos terapéuticamente útiles, pueden utilizarse para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente o mejorado. Generalmente, los peptidomiméticos son estructuralmente similares a un polipéptido paradigma (es decir, un polipéptido que tiene actividad biológica o farmacológica), tales como el polipéptido que se une al receptor natural, pero tienen uno o más enlaces peptídicos reemplazados opcionalmente por un enlace alterno, tal como -CH₂NH-, -CH₂S-, etc., mediante métodos conocidos en la técnica y descritos además en las siguientes referencias: Spatola, A. F. in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins, B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, New York, p. 267 (1983); Spatola, A. F., Vega Data (Mazo 1983), Vol. 1, Tomo 3, Peptide Backbone Modifications (revisión general); Morley, Trends Pharm. Sci. pp. 463-468 (1980), (revisión general); Hudson, et al., Int. J. Pept. Prot. Res., 14:177-185 (1979); Spatola, et al., Life Sci., 38:1243-1249 (1986); Hann, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 307-314 (1982); Almquist, et al., J. Med. Chem., 23:1392-1398, (1980); Jennings-White, et al., Tetrahedron Lett. 23:2533 (1982); Szelke, et al., Solicitud Europea EP 45665 (1982); Holladay, et al., Tetrahedron Lett., 24:4401-4404 (1983); y Hruby, Life Sci., 31:189-199 (1982); cada una de las cuales se incorpora en la presente como referencia. Un enlace no peptídico particularmente preferido es -CH₂NH-. Tales miméticos peptídicos pueden tener ventajas significativas con respecto a las modalidades polipeptídicas incluyendo, por ejemplo: producción más económica, mayor estabilidad química, propiedades farmacológicas

mejoradas (vida media, absorción, potencia, eficacia, etc.), especificidad alterada (por ejemplo, un amplio espectro de actividades biológicas), antigenicidad reducida y otras. El marcado de dos peptidomiméticos usualmente involucra la unión covalente de una o más marcas, directamente o
5 a través de un separador (por ejemplo, un grupo amida), en posiciones no interfirientes del peptidomimético que se predicen mediante datos cuantitativos de actividad de la estructura y/o modelado molecular. Tales posiciones no interfirientes generalmente son posiciones que no forman contactos directos con las macromoléculas (por ejemplo, moléculas de la
10 superfamilia de la inmunoglobulina) a las cuales el peptidomimético se une para producir el efecto terapéutico. La derivación (por ejemplo, marcado) de los peptidomiméticos no debe interferir sustancialmente con la actividad biológica o farmacológica deseada del peptidomimético. Generalmente, los peptidomiméticos de los péptidos que se unen al receptor se unen al receptor
15 con alta afinidad y poseen actividad biológica detectable (es decir, son agonistas o antagonistas a uno o más cambios fenotípicos mediados por el receptor).

Las sustituciones sistemáticas de uno o más aminoácidos de una secuencia de consenso con un aminoácido D del mismo tipo (por ejemplo, D-lisina en lugar de L-lisina), puede utilizarse para generar péptidos más
20 estables. Además, los péptidos restringidos que comprenden una secuencia de consenso o una variación de la secuencia del consenso sustancialmente idéntica, pueden generarse mediante métodos conocidos en la técnica (Rizo,

et al., Ann. Rev. Biochem., 61:387 (1992), incorporada en la presente como referencia); por ejemplo, agregando residuos internos de cisteína capaces de formar puentes de disulfuro intramoleculares que ciclan el péptido.

"Marca detectable" se refiere a materiales, los cuales cuando se unen de manera covalente a los compuestos peptídicos de esta invención, permiten la detección de los compuestos peptídicos in vivo en el paciente, a quien se le ha administrado el compuesto peptídico. Las marcas detectables adecuadas son bien conocidas en la técnica e incluyen, a manera de ejemplo, radioisótopos, marcas fluorescentes (por ejemplo, fluoresceína) y lo similar. La marca detectable particular empleada no es crítica, y se selecciona con relación a la cantidad de marca a emplearse, así como la toxicidad de la marca a la cantidad de marca empleada. La selección de la marca con relación a tales factores, está dentro de la experiencia en la técnica.

La unión covalente de la marca detectable al compuesto peptídico, se logra mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, cuando se emplea el radioisótopo ^{125}I como la marca detectable, la unión covalente del ^{125}I al compuesto peptídico puede lograrse incorporando el aminoácido tirosina en el compuesto peptídico y a continuación yodando el compuesto peptídico (véase, por ejemplo, Weaner, et al., Synthesis and Applications of Isotopically Labelled Compounds, pp. 137-140 (1994)). La incorporación de la tirosina en el término N o C del compuesto peptídico, puede lograrse mediante una química bien conocida. De igual manera, el ^{32}P puede incorporarse en el compuesto peptídico como

una porción fosfato a través de, por ejemplo, un grupo hidroxilo en el compuesto peptídico, utilizando la química convencional.

II. Generalidades

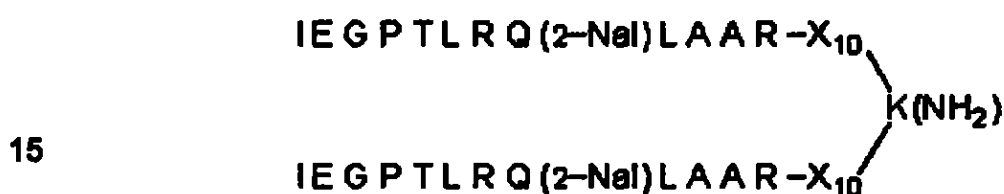
5 La presente invención proporciona compuestos que se unen a y activan el TPO-R o se comportan de otra manera como un agonista de la TPO. Estos compuestos peptídicos incluyen compuestos peptídicos "líderes" y compuestos peptídicos "derivados", contruidos para tener la misma o similar estructura o forma molecular que los compuestos peptídicos líder, pero
10 que difieren de los compuestos peptídicos líder con respecto a la susceptibilidad a la hidrólisis o proteólisis y/o con respecto a otras propiedades biológicas, tales como una afinidad incrementada por el receptor. La presente invención también proporciona composiciones que comprenden una cantidad efectiva de un compuesto peptídico, y más particularmente, un
15 compuesto peptídico que es útil para tratar trastornos hematológicos, y particularmente, trombocitopenia asociada con quimioterapia, terapia con radiación o transfusiones de médula ósea.

Se encontró que el compuesto peptídico del núcleo puede comprender una secuencia de aminoácidos: (SEQ ID NO:2) X₆ X₈ G X₁ X₂ X₃
20 X₄ X₅ X₆ X₇, en donde X₆ puede ser β-(2-naftil)alanina y en donde X₆ es A, C, E, G, I, L, M, P, R, Q, S, T o V; y X₈ es A, C, D, E, K, L, Q, R, S, T o V. De manera más preferida, X₆ es A o I; y X₈ es D, E o K. Además X₁ es C, L, M, P, Q, V; X₂ es F, K, L, N, Q, R, S, T o V; X₃ es C, F, I, L, M, R, S, V o W; X₄ es

cualquiera los 20 aminoácidos L codificados genéticamente; X_5 es A, D, E, G, K, M, Q, R, S, T, V o Y; y X_7 es C, G, I, K, L, M, N, R o V.

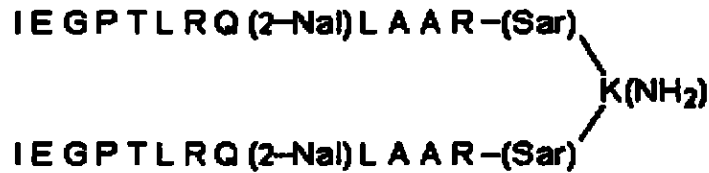
Sin embargo, como se describe además en la presente, se ha encontrado que reemplazando X_6 con β -(2-naftil)alanina, el compuesto proporciona diferentes propiedades del compuesto que contiene β -(1-naftil)alanina. En consecuencia, un péptido particularmente preferido incluye la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO:4): I E G P T L R Q (2-Nal) L A A R (Sar).

En otra modalidad, los compuestos peptídicos de la presente invención se dimerizan u oligomerizan de manera preferida para incrementar la afinidad y/o actividad de los compuestos. Un ejemplo de un compuesto peptídico dimerizado preferido incluye, de manera no exclusiva, lo siguiente:



en donde X_{10} es un residuo de sarcosina o β -alanina (SEQ ID NO: 7). Deberá notarse que un residuo X_{10} puede ser sarcosina y el otro residuo puede ser β -alanina. La estructura anterior también puede representarse mediante lo siguiente: $(H-IEGPTLRQ(2-Na)LAARX_{10})_2K-NH_2$.

Un compuesto peptídico preferido es como sigue:



5 en donde (2-Nal) es β -(2-naftil)alanina y (Sar) es sarcosina (SEQ
ID NO:7). Este compuesto peptídico se refiere en la presente como el
"Compuesto No. 1 de TPO".

Los compuestos peptídicos que tienen una Cl_{50} mayor que aproximadamente 100 mM, carecen de suficiente unión para permitir el uso en aspectos de diagnóstico o terapéuticos de esta invención. De manera preferida, para propósitos de diagnóstico, los compuestos peptídicos tienen una Cl_{50} de aproximadamente 2 mM o menos, y para propósitos farmacéuticos, los compuestos peptídicos tienen una Cl_{50} de aproximadamente 100 μ M o menos.

15 La Figura 1 compara la actividad de tres diferentes lotes del
Compuesto No. 1 de TPO con un lote del compuesto peptídico de la técnica
anterior, utilizando técnicas de ensayo con unidades luminiscentes relativas
estándar. El ensayo emplea células murinas modificadas genéticamente para
expresar de manera estable el receptor de la TPO humana y un constructo
20 reportero de luciferasa dirigido por el promotor fos. La diferencia entre el
Compuesto No. 1 de TPO y el compuesto peptídico de la técnica anterior es
que el compuesto peptídico de la técnica anterior tiene una β -(1-naftil)alanina
(1-Nal), en donde la (2-Nal) está en el Compuesto No. 1 de TPO. El

Compuesto No. 1 de TPO se refiere como 2-Nal, y el compuesto peptídico de la técnica anterior se refiere como 1-Nal (técnica anterior en la Figura 1). Como se muestra en la Figura 1, la actividad es similar para cada compuesto.

La Figura 2 compara la actividad de varios lotes diferentes del
5 Compuesto No. 1 de TPO PEGilado (la pegilación de los compuestos de la presente invención se describe con mayor detalle a continuación), con varios lotes del compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior. Ambos lotes de los compuestos peptídicos PEGilados de la técnica anterior muestra alta actividad con esencialmente el mismo nivel de actividad que el compuesto
10 peptídico no PEGilado de la técnica anterior. Las líneas restantes ilustran la actividad de diferentes lotes del Compuesto No. 1 de TPO PEGilado. Como se muestra en la Figura 2, en este modelo, el último tiene menos actividad con relación a los compuestos peptídicos PEGilados de la técnica anterior. El Compuesto No. 1 de TPO PEGilado se refiere como PEG-2-Nal y el
15 compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior se refiere como PEG-1-Nal (Técnica Anterior) en la Figura 2.

La Figura 3 demuestra la potencia relativa de un péptido PEGilado de la técnica anterior y el Compuesto No. 1 de TPO PEGilado. Mediante un modelo de rata, la Figura 3 muestra el cambio in vivo en los
20 conteos de plaquetas después de la administración del compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior y el Compuesto No. 1 de TPO PEGilado. Como se muestra por la Figura 3, la dosis más alta del Compuesto No. 1 de TPO PEGilado, tiene la misma actividad que la dosis más baja del compuesto

peptídico PEGilado de la técnica anterior. Un compuesto menos potente puede proporcionar un estímulo menos dramático a la célula objetivo, lo cual podría reducir el riesgo de efectos laterales causados por la sobreestimulación de la célula objetivo, tal como trombocitopenia exacerbada, después del ciclo subsiguiente de quimioterapia. El Compuesto No. 1 de TPO PEGilado se refiere como PEG-2-Nal y el compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior se refiere como PEG-1-Nal (Técnica Anterior) en la Figura 3.

Las Figuras 4 y 5 muestran los resultados de un estudio de respuesta a la dosis cabeza a cabeza de un compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior y el Compuesto No. 1 de TPO PEGilado en ratones normales. El Compuesto No. 1 de TPO PEGilado se refiere como PEG-2-Nal y el compuesto peptídico PEGilado de la técnica anterior se refiere como PEG-1-Nal (Técnica Anterior) en las Figuras 4 y 5. La Figura 4 muestra los incrementos en los niveles de plaquetas y la Figura 5 muestra el Volumen Medio de las Plaquetas, seis (6) días después del tratamiento. El intervalo de la dosis fue de 10 a 3000 ug/kg. Ambos compuestos peptídicos incrementan el número de plaquetas circulantes de una manera dependiente de la dosis con incrementos relativos para el grupo de control observados a dosis tan bajas como 30 ug/kg para ambos compuestos. A la respuesta máxima, estos compuestos peptídicos elevaron los conteos de paquetas a niveles que fueron hasta 4 veces mayores que los valores de control. Las curvas de dosis-respuesta para estos compuestos peptídicos fueron muy similares, indicando

que en este modelo esencialmente no hubo diferencia entre los dos artículos de prueba basándose en estos puntos finales.

III. Preparación de los compuestos peptídicos

5 A. Síntesis en fase sólida

Los compuestos peptídicos de la invención pueden prepararse mediante métodos clásicos conocidos en la técnica, por ejemplo, utilizando técnicas estándar en fase sólida. Los métodos estándar incluyen métodos de síntesis exclusiva en fase sólida, síntesis parcial en fase sólida, condensación
10 fragmentada, síntesis en solución clásica, e incluso mediante tecnología de ADN recombinante. Véase, por ejemplo, Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149 (1963), incorporada en la presente como referencia. En la fase sólida, la síntesis comienza típicamente desde el extremo C terminal del péptido, utilizando una resina protegida con un alfa-amino. Una materia prima
15 adecuada puede prepararse, por ejemplo, uniendo el alfa-aminoácido requerido a una resina clorometilada, o una resina de hidroximetilo o una resina de benzhidrilamina. Tal resina clorometilada se vende bajo la marca BIO-BEADS SX-1 por Bio Rad Laboratories, Richmond, CA, y la preparación de la resina de hidroximetilo se describe por Bodonszky, et al., Chem. Ind.
20 (Londres), 38:1597 (1966). La resina de benzhidrilamina (BHA) se ha descrito por Pietta y Marshall, Chem. Commn., 650 (1970), y está comercialmente disponible de Beckman Instruments, Inc., Palo Alto, Calif., en la forma de clorhidrato.

Así, los compuestos peptídicos de la invención pueden prepararse acoplando un aminoácido protegido con un alfa-amino a la resina clorometilada con la ayuda de, por ejemplo, catalizador de bicarbonato de cesio, de acuerdo con el método descrito por Gisin, Helv. Chim. Acta., 56:1467 (1973). Después del acoplamiento inicial, el grupo protector alfa-amino se elimina mediante una elección de reactivos, incluyendo soluciones de ácido trifluoroacético (TFA) o ácido clorhídrico (HCl) en solventes orgánicos a temperatura ambiente.

Los grupos protectores alfa-amino son aquéllos conocidos por ser útiles en la técnica de la síntesis paso a paso de los péptidos. Se incluyen los grupos protectores del tipo acilo (por ejemplo, formilo, trifluoroacetilo, acetilo), los grupos protectores del tipo uretano aromático (por ejemplo, benciloxycarbonilo (Cbz) y Cbz sustituido), grupos protectores de uretano alifático (por ejemplo, t-butiloxycarbonilo (Boc), isopropiloxycarbonilo, ciclohexiloxycarbonilo) y grupos protectores del tipo alquilo (por ejemplo, bencilo, trifenilmetilo). Boc y Fmoc son los grupos protectores preferidos. El grupo protector de la cadena lateral permanece intacto durante el acoplamiento y no se separa durante la desprotección del grupo protector del término amino o durante el acoplamiento. El grupo protector de la cadena lateral debe ser eliminable tras la terminación de la síntesis del péptido final y bajo las condiciones de reacción que no alterarán el péptido objetivo.

Los grupos protectores de la cadena lateral para Tyr incluyen tetrahidropiranilo, ter-butilo, trítalo, bencilo, Cbz, Z-Br-Cbz y 2,5-diclorobencilo.

Los grupos protectores de la cadena lateral para Asp incluyen bencilo, 2,6-diclorobencilo, metilo, etilo y ciclohexilo. Los grupos protectores de la cadena lateral para Thr y Ser incluyen acetilo, benzoilo, tritilo, tetrahidropiraniilo, bencilo, 2,6-diclorobencilo y Cbz. El grupo protector de la cadena lateral para

5 Thr y Ser es bencilo. Los grupos protectores de la cadena lateral para Arg incluyen nitro, Tosilo (Tos), Cbz, adamantiloxicarbonil mesitoilsulfonilo (Mts) o Boc. Los grupos protectores de la cadena lateral para Lys incluyen Cbz, 2-clorobenciloxicarbonilo (2-Cl-Cbz), 2-bromobenciloxicarbonilo (2-BrCbz), Tos o Boc.

10 Después de la eliminación del grupo protector alfa-amino, los aminoácidos protegidos restantes se acoplan paso a paso en el orden deseado. Se utiliza generalmente un exceso de cada aminoácido protegido con un activador del grupo carboxilo apropiado, tal como diciclohexilcarbodiimida (DCC) en solución, por ejemplo, en mezclas de

15 cloruro de metileno (CH_2Cl_2), dimetil formamida (DMF).

Después de que la secuencia de aminoácidos deseada se ha terminado, el péptido deseado se desacopla del soporte de la resina mediante el tratamiento con un reactivo tal como ácido trifluoroacético o fluoruro de hidrógeno (HF), el cual no sólo escinde el péptido de la resina, sino también

20 escinde todos los grupos protectores de la cadena lateral restantes. Cuando se utiliza la resina clorometilada, el tratamiento con fluoruro de hidrógeno resulta en la formación de los ácidos peptídicos libres. Cuando se utiliza resina de benzhidrilamina, el tratamiento con fluoruro de hidrógeno resulta

directamente en la amida peptídica libre. De manera alterna, cuando se emplea la resina clorometilada, el péptido protegido de la cadena lateral puede desacoplarse mediante el tratamiento de la resina peptídica con amoniaco para dar la amida protegida de la cadena lateral deseada o con una
5 alquilamina para dar una alquilamida o dialquilamida protegida de la cadena lateral. La protección de la cadena lateral se elimina a continuación de la manera usual mediante tratamiento con fluoruro de hidrógeno para proporcionar las amidas, alquilamidas o dialquilamidas libres.

Estos procedimientos de síntesis peptídica en fase sólida son
10 bien conocidos en la técnica, y se describen además por John Morrow Stewart y Janis Dillaha Young, Solid Phase Peptide Syntheses (2a Ed., Pierce Chemical Company, 1984).

B. Aminoácidos sintéticos

15 Estos procedimientos también pueden utilizarse para sintetizar péptidos en los cuales los aminoácidos diferentes a los 20 aminoácidos naturales codificados genéticamente, están sustituidos en una, dos o más posiciones de cualquiera de los compuestos de la invención.

Uno puede reemplazar las cadenas laterales naturales de los 20
20 aminoácidos codificados genéticamente (o aminoácidos D), con otras cadenas laterales, por ejemplo, con grupos tales como alquilo, alquilo inferior, alquilo cíclico de 4, 5, 6 a 7 miembros, amida, amida alquilo inferior, amida di(alquilo inferior), alcoxi inferior, hidroxí, carboxi y los derivados de éster inferior de los

mismos, y con un grupo heterocíclico de 4, 5, 6 a 7 miembros. En particular, pueden emplearse los análogos de prolina en los cuales el tamaño del anillo del residuo de prolina se cambia de 5 miembros a 4, 6 ó 7 miembros. Los grupos cíclicos pueden ser saturados o no saturados, y si no están saturados, pueden ser aromáticos o no aromáticos. Los grupos heterocíclicos contienen de manera preferida uno o más heteroátomos de nitrógeno, oxígeno y/o azufre. Los ejemplos de tales grupos incluyen el furazanilo, furilo, imidazolidinilo, imidazolilo, imidazolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo (por ejemplo, morfolino), oxazolilo, piperacinilo (por ejemplo, 1-piperacinilo), piperidilo (por ejemplo, 1-piperidilo, piperidino), piranilo, piracinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridacinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo (por ejemplo, 1-pirrolidinilo), pirrolinilo, pirrolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, tiomorfolinilo (por ejemplo, tiomorfolino) y triazolilo. Estos grupos heterocíclicos pueden estar sustituidos o no sustituidos. En donde un grupo está sustituido, el sustituyente puede ser alquilo, alcoxi, halógeno, oxígeno o fenilo sustituido o no sustituido.

Uno también puede modificar fácilmente los péptidos de la presente invención mediante fosforilación (véase, por ejemplo, W. Bannwarth, et al., *Biorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 6(17):2141-2146 (1996)), y otros métodos para hacer derivados peptídicos de los compuestos de la presente invención, como se describe en Hruby, et al., *Biochem. J.*, 268(2):249-262 (1990). Así, los compuestos peptídicos de la invención

también sirven como una base para preparar miméticos peptídicos con actividad biológica similar.

C. Modificaciones terminales

5 Aquellos con experiencia en la técnica reconocerán que está disponible una variedad de técnicas para construir compuestos peptídicos con la misma o similar actividad biológica deseada que el compuesto peptídico correspondiente, pero con una actividad más favorable que el compuesto peptídico con respecto a la solubilidad, estabilidad y susceptibilidad a hidrólisis y proteólisis. Véase, por ejemplo, Morgan, et al., Ann. Rep. Med. Chem., 10 24:243-252 (1989). Lo siguiente describe métodos para preparar compuestos peptídicos modificados en el grupo amino N terminal, el grupo carboxilo C terminal y/o cambiar uno o más enlaces amida en el péptido a un enlace que no es de amido. Se entenderá que dos o más de tales modificaciones pueden 15 acoplarse en una estructura del compuesto peptídico (por ejemplo, modificación en el grupo carboxilo C terminal e inclusión de un enlace carbamato -CH₂- entre dos aminoácidos en el compuesto peptídico).

1. Modificaciones N terminales

20 Los compuestos peptídicos típicamente se sintetizan como el ácido libre pero, como se indicó anteriormente, pueden prepararse fácilmente como la amida o el éster. Uno también puede modificar los términos amino y/o carboxi de los compuestos peptídicos de la invención, para producir otros

compuestos de la invención. Las modificaciones del término amino incluyen metilación, acetilación, adición de un grupo benciloxycarbonilo o bloqueo del término amino con cualquier grupo de bloqueo que contenga una funcionalidad carboxilato definida por RCOO- , en donde R se selecciona del grupo que consiste de naftilo, acridinilo, esteroidilo y grupos similares. Las modificaciones del término carboxi incluyen reemplazar el ácido libre con un grupo carboxamida o formar una lactama cíclica en el término carboxi para introducir restricciones estructurales.

Las modificaciones del término amino son como se expuso anteriormente, e incluyen alquilación, acetilación, adición de un grupo carbobenzoilo, formación de un grupo succinimida, etc. (Véase, por ejemplo, Murray, et al., *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 5a ed., Vol. 1, Manfred E. Wolf, ed., John Wiley and Sons, Inc. (1995)). Específicamente, el grupo amino N terminal puede hacerse reaccionar como sigue:

(a) para formar un grupo amida de la fórmula RC(O)NH- , en donde R es como se definió anteriormente mediante la reacción con un haluro ácido o un anhídrido simétrico. Típicamente, la reacción puede conducirse poniendo en contacto cantidades aproximadamente equimolares o en exceso (por ejemplo, aproximadamente 5 equivalentes) de un haluro ácido con el péptido en un diluyente inerte (por ejemplo, diclorometano), de manera preferida que contenga un exceso (por ejemplo, aproximadamente 10 equivalentes) de una amina terciaria, tal como diisopropiletilamina, para eliminar el ácido generado durante la reacción. Las condiciones de reacción

son de otra manera convencionales (por ejemplo, temperatura ambiente durante 30 minutos). La alquilación del amino terminal para proporcionar una sustitución N del alquilo inferior seguida por la reacción con un haluro ácido, como se describió anteriormente, proporcionará un grupo N alquil amida de la
5 fórmula $RC(O)NR-$;

(b) para formar un grupo succinimida mediante la reacción con anhídrido succínico. Como anteriormente, puede emplearse una cantidad aproximadamente equimolar o un exceso de anhídrido succínico (por ejemplo, aproximadamente 5 equivalentes) y el grupo amino se convierte a succinimida
10 mediante métodos bien conocidos en la técnica, incluyendo el uso de un exceso (por ejemplo, diez equivalentes) de una amina terciaria tal como diisopropiletilamina en un solvente inerte adecuado (por ejemplo, diclorometano). Véase, por ejemplo, Wollenberg, et al., Patente de E.U.A. No. 4,612,132, la cual se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.
15 Se entiende que el grupo succínico puede sustituirse con, por ejemplo, sustituyentes alquilo o -SR que se preparan de una manera convencional para proporcionar la succinimida sustituida en el término N del péptido. Tales sustituyentes alquilo se preparan mediante la reacción de una olefina inferior con anhídrido maleico de la manera descrita por Wollenberg, et al., supra y los
20 sustituyentes -SR se preparan mediante la reacción de RSH con anhídrido maleico, en donde R es como se definió anteriormente;

(c) para formar un grupo benciloxycarbonil-NH- o benciloxycarbonil-NH- sustituido, mediante la reacción con aproximadamente

una cantidad equivalente o un exceso de CBZ-Cl (es decir, cloruro de benciloxycarbonilo) o un CBZ-Cl sustituido en un diluyente inerte adecuado (por ejemplo, diclorometano) que contiene de manera preferida una amina terciaria para eliminar el ácido generado durante la reacción;

- 5 (d) para formar un grupo sulfonamida mediante la reacción con una cantidad equivalente o un exceso (por ejemplo, 5 equivalentes) de R-S(O)₂Cl en un diluyente inerte adecuado (diclorometano), para convertir la amina terminal en una sulfonamida, en donde R es como se definió anteriormente. De manera preferida, el diluyente inerte contiene un exceso de
10 amina terciaria (por ejemplo, diez equivalentes), tal como diisopropiletilamina, para eliminar el ácido generado durante la reacción. Las condiciones de reacción son de otra manera convencionales (por ejemplo, temperatura ambiente durante 30 minutos);

- (e) para formar un grupo carbamato mediante la reacción con
15 una cantidad equivalente o un exceso (por ejemplo, 5 equivalentes) de R-OC(O)Cl o R-OC(O)OC₆H₄-p-NO₂ en un diluyente inerte adecuado (por ejemplo, diclorometano), para convertir la amina terminal en un carbamato, en donde R es como se definió anteriormente. De manera preferida, el diluyente inerte contiene un exceso (por ejemplo, diez equivalentes) de una amina
20 terciaria, tal como diisopropiletilamina, para eliminar cualquier ácido generado durante la reacción. Las condiciones de reacción son de otra manera convencionales (por ejemplo, temperatura ambiente durante 30 minutos); y

(f) para formar un grupo urea mediante la reacción con una cantidad equivalente o un exceso (por ejemplo, 5 equivalentes) de $R-N=C=O$ en un diluyente inerte adecuado (por ejemplo, diclorometano), para convertir la amina terminal en un grupo urea (es decir, $RNHC(O)NH-$), en donde R es como se definió anteriormente. De manera preferida, el diluyente inerte contiene un exceso (por ejemplo, aproximadamente diez equivalentes) de una amina terciaria, tal como diisopropiletilamina. Las condiciones de reacción son de otra manera convencionales (por ejemplo, temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos).

10

2. Modificaciones C Terminales

En la preparación de los compuestos peptídicos en donde el grupo carboxilo C terminal está reemplazado por un éster (es decir, $-C(O)OR$ en donde R es como se definió anteriormente), se emplean las resinas utilizadas para prepara los ácidos peptídicos, y el péptido protegido de la cadena lateral se escinde con una base y un alcohol apropiado, por ejemplo, metanol. Los grupos protectores de la cadena lateral se eliminan de la manera usual mediante tratamiento con fluoruro de hidrógeno para obtener el éster deseado.

20

En la preparación de los compuestos peptídicos en donde el grupo carboxilo C terminal está reemplazado por la amida $-C(O)NR^3R^4$, se utiliza una resina de benzhidrilamina como el soporte sólido para la síntesis peptídica. Tras la terminación de la síntesis, el tratamiento con fluoruro de

hidrógeno para liberar el péptido del soporte resulta directamente en la amida del péptido libre (es decir, el término C es $-C(O)NH_2$). De manera alterna, el uso de la resina clorometilada durante la síntesis peptídica, acoplada con amoniaco para escindir el péptido protegido de la cadena lateral del soporte, 5 proporciona la amida del péptido libre y la reacción con una alquilamina o una dialquilamina proporciona una alquilamida o dialquilamida protegida de la cadena lateral (es decir, el término C es $-C(O)NRR^1$, en donde R y R^1 son como se definió anteriormente). La protección de la cadena lateral se elimina de la manera usual mediante tratamiento con fluoruro de hidrógeno para 10 proporcionar las amidas, alquilamidas o dialquilamidas libres.

Uno también puede ciclar los compuestos peptídicos de la invención, o incorporar un residuo desamino o descarboxi en los términos del compuesto peptídico, de manera que no hay un grupo amino o carboxilo terminal, para disminuir la susceptibilidad a las proteasas o para restringir la 15 conformación del compuesto peptídico. Los grupos funcionales C terminales de los compuestos peptídicos de la presente invención incluyen amida, amida alquilo inferior, amida di(alquilo inferior), alcoxi inferior, hidroxí y carboxi, y los derivados del éster inferior de los mismos, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 Además de las anteriores modificaciones N terminales y C terminales, los compuestos peptídicos de la invención, incluyendo los peptidomiméticos, pueden modificarse de manera ventajosa con o acoplarse de manera covalente a uno o más de una variedad de polímeros hidrofílicos.

Se ha encontrado que cuando los compuestos peptídicos se derivan con un polímero hidrofílico, su solubilidad y vidas medias en circulación se incrementan y su inmunogenicidad se enmascara. Lo anterior puede lograrse con poca, si la hay, disminución en su actividad de unión. Los polímeros no

5 proteináceos adecuados para utilizarse de acuerdo con la presente invención incluyen, de manera no exclusiva, polialquiléteres, como se ejemplifica por el polietilenglicol y el polipropilenglicol, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polioxialquenos, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, celulosa y derivados de celulosa, dextrano y derivados de dextrano, etc. Generalmente, tales

10 polímeros hidrofílicos tienen un peso molecular promedio que varía de aproximadamente 500 a aproximadamente 100,000 daltons, de manera más preferida de aproximadamente 2,000 a aproximadamente 40,000 daltons e incluso de manera más preferida, de aproximadamente 5,000 a aproximadamente 20,000 daltons. En las modalidades preferidas, tales

15 polímeros hidrofílicos tienen pesos moleculares promedio de aproximadamente 5,000 daltons, 10,000 daltons y 20,000 daltons.

Los compuestos peptídicos de la invención pueden derivarse con o acoplarse con tales polímeros utilizando cualquiera de los métodos expuestos en Zallipsky, S., Bioconjugate Chem., 6:150-165 (1995); Monfardini,

20 C, et al., Bioconjugate Chem., 6:62-69 (1995); Patente de E.U.A. No. 4,640,835; Patente de E.U.A. No. 4,496,889; Patente de E.U.A. No. 4,301,144; Patente de E.U.A. No. 4,670,417; Patente de E.U.A. No.

4,791,192; Patente de E.U.A. No. 4,179,337 o WO 95/34326, todas las cuales se incorporan como referencia en su totalidad en la presente.

En una modalidad actualmente preferida, los compuestos peptídicos de la presente invención se derivan con polietilenglicol (PEG). El PEG es un polímero lineal, soluble en agua, de unidades que se repiten de óxido de etileno con dos grupos hidroxilo terminales. Los PEG se clasifican por sus pesos moleculares, que varían típicamente de aproximadamente 500 daltons a aproximadamente 40,000 daltons. En una modalidad actualmente preferida, los PEG empleados tienen pesos moleculares que varía de 5,000 daltons a aproximadamente 20,000 daltons. Los PEG acoplados a los compuestos peptídicos de la presente invención pueden ser ramificados o no ramificados. (Véase, por ejemplo, Monfardini, C., et al., Bioconjugate Chem., 6: 62-69 (1995)). Los PEG están comercialmente disponibles de Shearwater Polymers, Inc. (Huntsville, Ala.), (ahora parte de Nektar Therapeutics (San Carlo, CA), Sigma Chemical Co. y otras compañías. Tales PEG incluyen, de manera no exclusiva, monometoxipolietilenglicol (MePEG-OH), monometoxipolietilenglicol-succinato (MePEG-S), monometoxipolietilenglicol-succinato de succinimidilo (MePEG-S-NHS), monometoxipolietilenglicol-amina (MePEG-NH₂), monometoxipolietilenglicol-tresilato (MePEG-TRES) y monometoxipolietilenglicol-imidazolil-carbonilo (MePEG-IM).

De manera breve, en una modalidad, el polímero hidrofílico que se emplea, por ejemplo, PEG, está coronado, de manera preferida, en un extremo con un grupo no reactivo tal como un grupo metoxi o etoxi.

Posteriormente, el polímero se activa en el otro extremo mediante la reacción con un agente activante adecuado, tal como haluros cianúricos (por ejemplo, cloruro, bromuro o fluoruro cianúrico), diimadozle, un reactivo anhídrido (por ejemplo, un anhídrido dihalosuccínico, tal como anhídrido dibromosuccínico), acil azida, éter p-diazoibencillico, 3-(p-diazoniufenoxi)-2-hidroxipropiléter) y lo similar. El polímero activado se hace reaccionar a continuación con un compuesto peptídico de la presente invención para producir un compuesto peptídico derivado con un polímero. De manera alterna, un grupo funcional en los compuestos peptídicos de la invención puede activarse para la reacción con el polímero, o los dos grupos pueden unirse en una reacción de acoplamiento concertado utilizando métodos de acoplamiento conocidos. Se apreciará fácilmente que los compuestos peptídicos de la invención pueden derivarse con PEG utilizando una miríada de otros esquemas de reacción conocidos por, y utilizados por aquellos con experiencia en la técnica.

15 Cuando estos compuestos peptídicos se derivan con un polímero hidrofílico, su solubilidad y vidas medias en circulación se incrementan y su inmunogenicidad disminuye. Lo anterior puede lograrse con poca, si la hay, pérdida de su actividad biológica. En las modalidades preferidas, los péptidos derivados tienen una actividad que es 0.1 a 0.01 veces aquélla de los péptidos no modificados. En las modalidades más preferidas, los péptidos derivados tienen una actividad que es 0.1 a 1 vez aquélla de los péptidos no modificados. En las modalidades aún más preferidas, los péptidos derivados tienen una actividad que es mayor que la de los péptidos no modificados.

D. Modificaciones de la Cadena Principal

Otros métodos para hacer los derivados peptídicos de los compuestos de la presente invención se describen en Hruby, et al., Biochem J., 268 (2): 249-262 (1990), incorporada en la presente como referencia. Así, los compuestos peptídicos de la invención también sirven como modelos estructurales para los compuestos no peptídicos con una actividad biológica similar. Aquellos con experiencia en la técnica reconocerán que está disponible una variedad de técnicas para construir compuestos con la misma o similar actividad biológica deseada, como la del compuesto peptídico líder, pero con una actividad más favorable que la del líder con respecto a la solubilidad, estabilidad y susceptibilidad a la hidrólisis y la proteólisis. Véase, Morgan, et al., Ann. Rep. Med. Chem., 24:243-252 (1989), incorporada en la presente como referencia. Estas técnicas incluyen reemplazar la cadena principal peptídica con una cadena principal compuesta de fosfonatos, amidatos, carbamatos sulfonamidas, aminas secundarias, y N-metilaminoácidos.

Los reactivos adecuados incluyen, por ejemplo, análogos de aminoácidos en donde el grupo carboxilo del aminoácido se ha reemplazado con una porción adecuada para formar uno de los enlaces anteriores.

De manera similar, el reemplazo de un enlace amido en el péptido con un enlace fosfonato puede lograrse de la manera expuesta en las Patentes de E.U.A. Nos. 5,359,115 y 5,420,328, las descripciones de las cuales se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

E. Formación del Enlace Disulfuro

Los compuestos de la presente invención pueden existir en una forma ciclizada con un enlace disulfuro intramolecular entre los grupos tiol de las cisteínas incorporadas, si están presentes. De manera alterna, puede
5 producirse un enlace disulfuro intermolecular entre los grupos tiol de las cisteínas, para proporcionar un compuesto dimérico (u oligomérico superior). Uno o más de los residuos de cisteína también pueden sustituirse con una homocisteína.

10 IV. Utilidad

Los compuestos peptídicos de la invención son útiles in vitro como herramientas únicas para entender el papel biológico de la TPO, incluyendo la evaluación de muchos factores que se piensa influyen y son influenciados por la producción de la TPO y el proceso de unión al receptor.
15 Los presentes compuestos peptídicos también son útiles en el desarrollo de otros compuestos que se unen a, y activan el TPO-R, puesto que los presentes compuestos peptídicos proporcionan información importante sobre la relación entre la estructura y la actividad que facilitaría tal desarrollo.

Los compuestos peptídicos también son útiles como enlaces
20 competitivos en ensayos para seleccionar nuevos agonistas del receptor de la TPO. En tales modalidades de ensayo, los compuestos peptídicos de la invención pueden utilizarse sin modificación o pueden modificarse en una variedad de formas; por ejemplo, mediante marcado, tal como uniendo de

manera covalente o no covalente una porción, la cual proporciona directa o indirectamente una señal detectable. En cualquiera de estos ensayos, los materiales de los mismos pueden marcarse directa o indirectamente. Las posibilidades para el marcado directo incluyen grupos de marcas tales como:

5 radiomarcas tales como $^{125}\text{-I}$, enzimas (Patente de E.U.A. No. 3,645,090) tales como peroxidasa y fosfatasa alcalina, y marcas fluorescentes (Patente de E.U.A. No. 3,940,475) capaz de verificar el cambio en la intensidad de la fluorescencia, desplazamiento de la longitud de onda o polarización de la fluorescencia. Las posibilidades para el marcado indirecto incluyen la

10 biotinilación de un constituyente, seguido por la unión a avidina acoplada a uno de los grupos de marcas anteriores. Los compuestos peptídicos también pueden incluir separadores o enlazantes en los casos en donde los compuestos peptídicos se van a unir a un soporte sólido.

Además, basándose en su capacidad para unirse al receptor de

15 la TPO, los compuestos peptídicos de la presente invención pueden utilizarse como reactivos para detectar los receptores de la TPO en células vivientes, células fijas, en fluidos biológicos, en homogenados de tejido, en materiales biológicos naturales, purificados, etc. Por ejemplo, marcando tales compuestos peptídicos, uno puede identificar las células que tienen TPO-R en

20 sus superficies. Además, basándose en su capacidad para unirse al receptor de la TPO, los compuestos peptídicos de la presente invención pueden utilizarse en la tinción in situ, FACS (clasificación celular activada por la fluorescencia), Western blotting, ELISA, etc. Además, basándose en su

capacidad para unirse al receptor de la TPO, los compuestos peptídicos de la presente invención pueden utilizarse en la purificación del receptor, o en la purificación de células que expresan los receptores de la TPO en la superficie celular (o dentro de las células permeabilizadas).

5 Los compuestos peptídicos de la presente invención también pueden utilizarse como reactivos comerciales para varios usos de investigación y diagnóstico médico. Tales usos incluyen de manera no exclusiva: (1) uso como un estándar de calibración para cuantificar las actividades de los agonistas de la TPO candidatos, en una variedad de
10 ensayos funcionales; (2) uso para mantener la proliferación y crecimiento de líneas celulares dependientes de la TPO; (3) uso en análisis estructural del receptor de la TPO mediante cocrystalización; (4) uso para investigar el mecanismo de la transducción de la señal/activación del receptor de la TPO; y (5) otras aplicaciones de investigación y diagnóstico en donde el receptor de
15 la TPO está activado de manera preferida, o tal activación es calibrada de manera conveniente contra una cantidad conocida de un agonista de la TPO y lo similar.

 Los compuestos peptídicos de la presente invención pueden utilizarse para la expansión in vitro de los megacariocitos y sus progenitores
20 comprometidos, ambos en conjunto con citocinas adicionales o por sí solos. Véase, por ejemplo, DiGiusto, et al., Publicación del PCT No. 95/05843, la cual se incorpora en la presente como referencia. La quimioterapia y las terapias con radiación causan trombocitopenia al destruir la población de

megacariocitos más madura, que se divide rápidamente. Sin embargo, estos tratamientos terapéuticos también pueden reducir el número y la viabilidad de las células precursoras del megacariocito, inmaduras, menos mitóticamente activas. Así, la mejora de la trombocitopenia por la TPO o los compuestos peptídicos de la presente invención puede acelerarse infundiendo a los

5 pacientes postquimioterapia o terapia con radiación con una población de sus propias células enriquecidas con megacariocitos y precursores inmaduros mediante el cultivo in vitro.

Los compuestos peptídicos de la invención también pueden

10 administrarse a animales de sangre caliente, incluyendo humanos, para desactivar el TPO-R in vivo. Así, la presente invención abarca métodos para el tratamiento terapéutico de trastornos relacionados con la TPO, que comprenden administrar un compuesto peptídico de la invención en cantidades suficientes para imitar el efecto de la TPO en el TPO-R in vivo.

15 Por ejemplo, los compuestos peptídicos de la invención pueden administrarse para tratar una variedad de trastornos hematológicos, incluyendo, de manera no exclusiva a los trastornos de las plaquetas y la trombocitopenia, particularmente cuando se asocia con transfusiones de médula ósea, terapia con radiación y quimioterapia.

20 En algunas modalidades de la invención, los antagonistas de la TPO son, de manera preferida, administrados a pacientes que se someten a quimioterapia o terapia con radiación, seguido por la administración de los agonistas de la TPO de la invención.

La actividad de los compuestos peptídicos de la presente invención puede evaluarse in vitro o in vivo en uno de los numerosos modelos descritos en McDonald, Am. J. of Pediatric Hematology/Oncology, 14:8-21 (1992), que se incorpora en la presente como referencia.

5 De acuerdo con una modalidad, las composiciones de la presente invención son útiles para tratar la trombocitopenia asociada con las transfusiones de médula ósea, terapia con radiación o quimioterapia. Los compuestos peptídicos típicamente se administrarán profilácticamente antes de la quimioterapia, terapia con radiación o trasplante de médula ósea o
10 después de tal exposición.

En consecuencia, la presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden, como un ingrediente activo, al menos uno de los compuestos peptídicos de la invención, en asociación con un portador o diluyente farmacéutico. Los compuestos peptídicos de esta
15 invención pueden administrarse mediante rutas de administración oral, pulmonar, parenteral (inyección intramuscular, intraperitoneal, intravenosa (IV) o subcutánea), inhalación (vía una formulación de polvo fino), transdérmica, nasal, vaginal, rectal o sublingual, y pueden formularse en formas de dosificación apropiadas para cada ruta de administración. Véase, por
20 ejemplo, Bernstein, et al., Publicación de Patente del PCT No. WO 93/25221; Pitt, et al., Publicación de Patente del PCT No. WO 94/17784 y Pitt, et al., Solicitud de Patente Europea 613,683, cada una de las cuales se incorpora en la presente como referencia.

Las formas de dosificación sólida para la administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólida, el compuesto peptídico activo se mezcla con al menos un portador inerte farmacéuticamente aceptable, tal como sucrosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden comprender también, como es normal en la práctica, sustancias adicionales diferentes a los diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender también agentes amortiguantes. Las tabletas y píldoras pueden prepararse además con recubrimientos entéricos.

Las formas de dosificación líquida para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes farmacéuticamente aceptables, con los elixires que contienen diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como agua. Además de tales diluyentes inertes, las composiciones también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes.

Las preparaciones de acuerdo con esta invención para la administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones o emulsiones estériles acuosas o no acuosas. Los ejemplos de solventes o vehículos no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y aceite de maíz, gelatina y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Tales formas de dosificación pueden contener también

adyuvantes tales como agentes conservadores, humectantes, emulsificantes y de dispersión. Pueden ser esterilizados, mediante por ejemplo, filtración a través de un filtro que retiene las bacterias, incorporando agentes esterilizantes en las composiciones, irradiando las composiciones o
5 calentando las composiciones. Pueden también fabricarse utilizando agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril, inmediatamente antes del uso.

Las composiciones para la administración rectal o vaginal son de manera preferida, supositorios que pueden contener, además de la sustancia activa, excipientes tales como manteca de cacao o cera para supositorio. Las
10 composiciones para la administración nasal o sublingual también se preparan con excipientes estándar bien conocidos en la técnica.

Las composiciones que contienen los compuestos peptídicos pueden administrarse para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente
15 que ya sufre de una enfermedad, como se describió anteriormente, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "dosis terapéuticamente efectiva". Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la severidad de la enfermedad y el
20 peso y el estado general del paciente.

Las composiciones de la invención también pueden microencapsularse mediante, por ejemplo, el método de Tice y Bibi (en

Treatise on Controlled Drug Delivery, ed. A. Kydonieus, Marcel Dekker, New York (1992), pp. 315-339).

En aplicaciones profilácticas, las composiciones que contienen los compuestos peptídicos de la invención, se administran a un paciente susceptible de, o de otra manera en riesgo de una enfermedad particular. Tal
5 cantidad se define como una "dosis profilácticamente efectiva". En este uso, las cantidades precisas dependen nuevamente del estado de salud del paciente y del peso.

Las cantidades del compuesto peptídico, necesarias para una
10 terapia efectiva, variarán dependiendo de muchos factores diferentes, incluyendo los medios de administración, el sitio objetivo, el estado fisiológico del paciente y otros medicamentos administrados. Así, las dosificaciones del tratamiento deberán titularse para optimizar la seguridad y la eficacia. Típicamente, las dosificaciones utilizadas in vitro pueden proporcionar una
15 guía útil para las cantidades útiles para la administración in situ de estos reactivos. Las pruebas con animales de las dosis efectivas para el tratamiento de trastornos particulares, proporcionarán una indicación predictiva adicional de la dosificación en humanos. Varias consideraciones se describen, por ejemplo, en Gilman, et al. (eds), Goodman y Gilman: The Pharmacological
20 Basis of Therapeutics, 8a ed., Pergamon Press (1990); y Remington's Pharmaceutical Sciences, 7a Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1985); cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia.

Los compuestos peptídicos de esta invención son efectivos para tratar condiciones mediadas por la TPO cuando se administran a un intervalo de dosificación de aproximadamente 0.001 mg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día. La dosis específica empleada se regula por la condición particular que está siendo tratada, la ruta de administración, así como por el juicio del clínico que atiende, dependiendo de factores tales como la severidad de la condición, la edad y la condición general del paciente y lo similar.

10

EJEMPLO 1

Síntesis peptídica en fase sólida

Los compuestos peptídicos de la invención pueden sintetizarse, por ejemplo, utilizando las técnicas de síntesis en fase sólida de Merrifield (véase, Steward y Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 2a edición, Pierce Chemical, Rockford, Ill. (1984) y Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149 (1963)) o un sintetizador de péptidos de Applied Biosystems Inc. Modelo 431A o 433A. Los compuestos peptídicos pueden montarse utilizando protocolos estándar de Synth Assist.TM 1.0.0 o Synth Assist.TM 2.0.2 de Applied Biosystems Inc. Cada acoplamiento puede realizarse durante 2 x 30 minutos, con HBTU (hexafluorofosfato de 2-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) y HOBt (1-hidroxibenzotriazol).

20

La resina utilizada puede ser resina HMP, resina de (p-hidroximetil fenoximetil) poliestireno o PAL (Milligen/Bioscience), la cual es una resina de poliestireno reticulada con ácido 5-(4'-Fmoc-aminometil-3,5'-dimetioxi) valérico como el enlazante. El uso de la resina PAL resulta en una funcionalidad de amida carboxi terminal tras la escisión del péptido de la resina. Tras la escisión, la resina HMP produce una porción de ácido carboxílico en el término C del producto final. La mayoría de los reactivos, resinas y aminoácidos protegidos (libres o sobre la resina) pueden comprarse de Millipore o Applied Biosystems Inc.

El grupo Fmoc puede utilizarse para la protección del amino durante el procedimiento de acoplamiento. La protección de la amina primaria en los aminoácidos puede lograrse con Fmoc y grupos de protección de la cadena lateral tales como t-butilo para serina, tirosina, ácido glutámico y treonina; tritilo para la glutamina; Pmc (2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo) para arginina; N-t-butiloxycarbonilo para triptofano; N-tritilo para histidina y S-tritilo para cisteína.

La eliminación de los compuestos peptídicos de la resina y la desprotección simultánea de las funciones de la cadena lateral puede lograrse mediante el tratamiento con el reactivo K o con ligeras modificaciones del mismo. De manera alterna, en la síntesis de estos péptidos, con un término carboxilo amidado, el péptido completamente montado puede escindirse con una mezcla de 90% de ácido trifluoroacético, 5% de etandiol y 5% de agua, inicialmente a 4°C, e incrementándose gradualmente a temperatura ambiente.

Los compuestos peptídicos desprotegidos pueden precipitarse con éter dietílico. La purificación puede ser mediante cromatografía líquida de alto rendimiento, preparativa, en fase inversa, en una columna de gel de sílice unido C18, con un gradiente de acetonitrilo/agua en ácido trifluoroacético al 0.1%. Los compuestos peptídicos homogéneos pueden caracterizarse mediante espectrometría de masas con Bombardeo Rápido de Átomos o espectrometría de masas con electrospray y análisis de los aminoácidos, cuando es aplicable.

En una modalidad preferida, los compuestos peptídicos de esta invención se dimerizan utilizando procedimientos sintéticos estándar conocidos por y utilizados por aquellos con experiencia en la técnica. Siguiendo estos esquemas sintéticos, aquellos con experiencia en la técnica pueden preparar fácilmente compuestos peptídicos diméricos, de acuerdo con la presente invención. Además, será fácilmente evidente para aquellos con experiencia en la técnica, que las subunidades diméricas pueden enlazarse fácilmente utilizando metodologías y enlazantes conocidos.

EJEMPLO 2

Pegilación de los compuestos peptídicos

20

La pegilación de un compuesto peptídico de la presente invención puede llevarse a cabo mediante técnicas bien conocidas. Por ejemplo, un compuesto peptídico de la invención puede disolverse en bicina

100 mM pH 8.0 a una concentración de 10 mg/ml, agregarse a un exceso molar de 1.25 veces de PEG2 en polvo (comercialmente disponible de Shearwater Polymers, Inc. (Huntsville, Ala.)) y agitarse a temperatura ambiente hasta que la reacción está completa, típicamente 1-2 horas. La

5 reacción se verifica mediante HPLC en fase inversa utilizando un gradiente de acetonitrilo de 40-65% con una columna YMC ODS AQ. Cuando la reacción está completa, la solución se agrega a un segundo exceso molar de 1.25 de PEG2 en polvo y el procedimiento se repite 4 veces, utilizando un total de 5 moles de PEG2 por cada mol de polipéptido. La solución se diluye 2 veces

10 con PBS para reducir la viscosidad y se carga en una columna superdex 200 (Pharmacia), equilibrada previamente y eluida con PBS. Las fracciones de la columna de exclusión de tamaño pueden analizarse mediante HPLC en fase inversa. Las fracciones que contienen el compuesto di-PEG-peptídico que eluyen antes de cualquier compuesto mono-PEG-peptídico, pueden reunirse y

15 almacenarse a 5°C o liofilizarse.

Aunque sólo las modalidades preferidas de la invención se describen específicamente en lo anterior, se apreciará que son posibles modificaciones y variaciones de la invención, sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

N VEDAD DE LA INVENCION**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Un compuesto peptídico que se une a un receptor de la trombopoyetina, en donde el compuesto peptídico comprende (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), en donde X₁₀ se selecciona del grupo que consiste de sarcosina o β-alanina.
- 10 2.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el compuesto peptídico está unido covalentemente a un polímero hidrofílico.
- 3.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado además porque el polímero hidrofílico tiene un peso
- 15 molecular promedio de entre aproximadamente 500 a aproximadamente 40,000 daltons.
- 4.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado además porque el polímero hidrofílico tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 5,000 a aproximadamente
- 20 20,000 daltons.
- 5.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado además porque el polímero hidrofílico se selecciona del grupo

que consiste de polietilenglicol, polipropilenglicol, ácido poliláctico y ácido poliglicólico.

6.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado además porque el polímero hidrofílico es polietilenglicol.

5 7.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque cada una de las subunidades diméricas del compuesto peptídico está unida covalentemente a un polímero hidrofílico.

8.- Una composición farmacéutica que comprende el compuesto peptídico de la reivindicación 1, en combinación con un portador
10 farmacéuticamente aceptable.

9.- Un método para tratar a un paciente que sufre de un trastorno que es susceptible de tratamiento con un agonista de trombopoyetina, que comprende administrar al paciente una dosis o cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto peptídico de la reivindicación 1.

15 10.- Una composición polipeptídica fisiológicamente activa, sustancialmente no inmunogénica, soluble en agua, que comprende un compuesto peptídico de la reivindicación 1, acoplado con un agente de acoplamiento a al menos un polímero que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 500 a aproximadamente 20,000 daltons, seleccionado del
20 grupo que consiste de polietilenglicol y propilenglicol, en donde el polímero está no sustituido o sustituido con grupos alcoxi o alquilo, los grupos alcoxi o alquilo poseen menos que 5 átomos de carbono.

11.- La composición polipeptídica de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada además porque el polímero tiene un peso molecular de aproximadamente 750 a aproximadamente 15,000 daltons.

12.- La composición polipeptídica de conformidad con la
5 reivindicación 10, caracterizada además porque el polímero tiene un peso molecular de aproximadamente 5,000 a aproximadamente 10,000 daltons.

13.- La composición polipeptídica de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada además porque el polímero es polietilenglicol.

14.- Una composición polipeptídica sustancialmente no
10 inmunogénica, soluble agua, que comprende la composición de conformidad con la reivindicación 10 y un portador farmacéuticamente aceptable.

15.- Un método para activar un receptor de la trombopoyetina en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad efectiva de un compuesto peptídico que comprende
15 (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), en donde X₁₀ se selecciona del grupo que consiste de sarcosina o β-alanina.

16.- El método de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado además porque las células comprenden megacariocitos,
20 plaquetas o células CD34+ humanas.

17.- El método de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado además porque las células comprenden células dependientes de la TPO.

18.- Un método para tratar la trombocitopenia en un sujeto, que comprende: (a) obtener una población de células del sujeto, que comprende células precursoras de los megacariocitos; (b) tratar las células con el método de la reivindicación 15; y (c) administrar las células tratadas al sujeto, para
5 incrementar el número de megacariocitos presentes en el sujeto en comparación con aquél que ocurriría sin tal tratamiento.

19.- El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado además porque la trombocitopenia es debida a la quimioterapia.

20.- El método de conformidad con la reivindicación 19,
10 caracterizado además porque la población de células se obtiene antes de la quimioterapia.

21.- El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado además porque la trombocitopenia es debida a la terapia con radiación.

15 22.- El método de conformidad con la reivindicación 21, caracterizado además porque la población de células se obtiene antes de la terapia con radiación.

23.- Un método para tratar a un paciente que sufre de trombocitopenia, que comprende administrar al paciente una dosis
20 terapéuticamente efectiva de un compuesto peptídico que comprende (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), en donde X₁₀ se selecciona del grupo que consiste de sarcosina o β-alanina.

24.- El método de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado además porque la trombocitopenia es debida a la quimioterapia o terapia con radiación.

25.- El método de conformidad con la reivindicación 24,
5 caracterizado además porque un antagonista de la TPO se administra a un paciente antes de la quimioterapia o terapia con radiación.

26.- El método de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado además porque la trombocitopenia es debida a una transfusión de médula ósea.

10 27.- Un método para tratar profilácticamente a un paciente en riesgo de trombocitopenia, que comprende administrar al paciente una dosis profilácticamente efectiva de un compuesto peptídico que comprende (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), en donde X₁₀ se selecciona del grupo que consiste de sarcosina o
15 β-alanina.

28.- El método de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado además porque el compuesto peptídico se administra antes del trasplante de médula ósea, quimioterapia o terapia con radiación.

29.- Un compuesto que se une a un receptor de la
20 trombopoyetina, el compuesto peptídico tiene: (1) un peso molecular de menos que aproximadamente 8000 daltons, y (2) una afinidad de unión al receptor de la trombopoyetina como se expresa por una CI₅₀ de no más que

aproximadamente 100 mM, en donde el compuesto peptídico comprende la siguiente secuencia de aminoácidos:



en donde X_9 es A, C, E, G, I, L, M, P, R, Q, S, T o V; y X_8 es A, C, D, E, K, L, Q, R, S, T o V, X_1 es C, L, M, P, Q, V; X_2 es F, K, L, N, Q, R, S, T o V; X_3 es C, F, I, L, M, R, S, V o W; X_4 es cualquiera de los 20 aminoácidos L codificados genéticamente; X_5 es A, D, E, G, K, M, Q, R, S, T, V o Y; X_7 es C, G, I, K, L, M, N, R o V, y X_6 es β -(2-naftil)alanina.

30.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque la secuencia de aminoácidos está ciclizada.

31.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque la secuencia de aminoácidos está dimerizada.

32.- Un método para activar un receptor de la trombopoyetina en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad efectiva de un compuesto peptídico que tiene un peso molecular de menos que aproximadamente 8000 daltons, el compuesto peptídico comprende la siguiente secuencia de aminoácidos:



en donde X_9 es A, C, E, G, I, L, M, P, R, Q, S, T o V; y X_8 es A, C, D, E, K, L, Q, R, S, T o V, X_1 es C, L, M, P, Q, V; X_2 es F, K, L, N, Q, R, S, T o V; X_3 es C, F, I, L, M, R, S, V o W; X_4 es cualquiera de los 20 aminoácidos L codificados

genéticamente; X_5 es A, D, E, G, K, M, Q, R, S, T, V o Y; X_7 es C, G, I, K, L, M, N, R o V, y X_6 es β -(2-naftil)alanina.

33.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado además porque la secuencia de aminoácidos está ciclizada.

5 34.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado además porque la secuencia de aminoácidos está dimerizada.

35.- Un método para activar un receptor de la trombopoyetina en una célula, que comprende poner en contacto la célula con una cantidad efectiva de un compuesto peptídico unido covalentemente a un polímero hidrofílico, el compuesto peptídico comprende la secuencia de aminoácidos I
10 E G P T L R Q (2-Nal) L A A R (Sar) (SEQ ID NO:7).

36.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque el polímero hidrofílico tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 500 a aproximadamente 40,000 daltons.
15

37.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque el polímero hidrofílico tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 5,000 a aproximadamente 20,000 daltons.

20 38.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque el polímero se selecciona del grupo que consiste de polietilenglicol, polipropilenglicol, ácido poliláctico y ácido poliglicólico.

39.- El método de conformidad con la reivindicación 38, caracterizado además porque el compuesto peptídico está unido covalentemente al polietilenglicol.

40.- El método de conformidad con la reivindicación 35,
5 caracterizado además porque las células están in vivo.

41.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque las células están in vitro.

42.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque las células comprenden megacariocitos,
10 plaquetas o células CD34+ humanas.

43.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado además porque las células comprenden células dependientes de la TPO.

44.- Un método para tratar la trombocitopenia en un sujeto, que
15 comprende: (a) obtener una población de células de un sujeto, que comprende células precursoras de los megacariocitos; (b) tratar las células de acuerdo con el método de la reivindicación 35; y (c) administrar las células tratadas al sujeto, para incrementar el número de megacariocitos presentes en el sujeto en comparación con aquél que ocurriría sin tal tratamiento.

20 45.- El método de conformidad con la reivindicación 44, caracterizado además porque la trombocitopenia es debida a la quimioterapia.

46.- El método de conformidad con la reivindicación 45, caracterizado además porque la población de células se obtiene antes de la quimioterapia.

47.- El método de conformidad con la reivindicación 44,
5 caracterizado además porque la trombocitopenia es debida a la terapia con radiación.

48.- El método de conformidad con la reivindicación 47, caracterizado además porque la población de células se obtiene antes de la terapia con radiación.

10 49.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado además porque el compuesto peptídico comprende la siguiente secuencia de aminoácidos: I E G P T L R Q (2-Nal) L A A R (Sar) (SEQ ID NO:7).

15 50.- Un compuesto peptídico que se une a un receptor de la trombopoyetina, en donde dicho compuesto peptídico comprende (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAAR(Sar)₂K-NH₂).

51.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 50, caracterizado además porque el compuesto peptídico está unido covalentemente a un polímero hidrofílico.

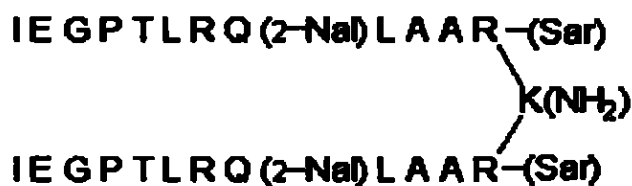
20 52.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 51, caracterizado además porque el polímero hidrofílico se selecciona del grupo que consiste de polietilenglicol, polipropilenglicol, ácido poliláctico y ácido poliglicólico.

53.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado además porque el polímero hidrofílico es polietilenglicol.

54.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 53, caracterizado además porque el polietilenglicol tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 5,000 a aproximadamente 20,000 daltons.

55.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 53, caracterizado además porque el polietilenglicol se selecciona del grupo que consiste de monometoxipolietilenglicol (MePEG-OH), monometoxipolietilenglicol-succinato (MePEG-S), monometoxipolietilenglicol-succinato de succinimidilo (MePEG-S-NHS), monometoxipolietilenglicol-amina (MePEG-NH₂), monometoxipolietilenglicol-tresilato (MePEG-TRES) y monometoxipolietilenglicol-imidazolil-carbonilo (MePEG-IM).

56.- Un compuesto peptídico que se une al receptor de la trombopoyetina que tiene la siguiente fórmula:



en donde (2-Nal) es β -(2-naftil)alanina y (Sar) es sarcosina.

57.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 56, caracterizado además porque el compuesto peptídico está unido covalentemente a un polímero hidrofílico.

58.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 57, caracterizado además porque el polímero hidrofílico se selecciona del grupo que consiste de polietilenglicol, polipropilenglicol, ácido poliláctico y ácido poliglicólico.

5 59.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 57, caracterizado además porque el polímero hidrofílico es polietilenglicol.

60.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 59, caracterizado además porque el polietilenglicol tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 5,000 a aproximadamente 20,000
10 daltons.

61.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 59, caracterizado además porque el polietilenglicol se selecciona del grupo que consiste de monometoxipolietilenglicol (MePEG-OH), monometoxipolietilenglicol-succinato (MePEG-S), monometoxipolietilenglicol-succinato de succinimidilo (MePEG-S-NHS), monometoxipolietilenglicol-amina
15 (MePEG-NH₂), monometoxipolietilenglicol-tresilato (MePEG-TRES) y monometoxipolietilenglicol-imidazolil-carbonilo (MePEG-IM).

62.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 56, caracterizado además porque cada una de las subunidades diméricas del
20 compuesto peptídico están unidas covalentemente a un polímero hidrofílico.

63.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 62, caracterizado además porque el polímero hidrofílico se selecciona del

grupo que consiste de polietilenglicol, polipropilenglicol, ácido poliláctico y ácido poliglicólico.

64.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado además porque el polímero hidrofílico es polietilenglicol.

5 65.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 64, caracterizado además porque el polietilenglicol tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 5,000 a aproximadamente 20,000 daltons.

10 66.- El compuesto peptídico de conformidad con la reivindicación 65, caracterizado además porque el polietilenglicol se selecciona del grupo que consiste de monometoxipolietilenglicol (MePEG-OH), monometoxipolietilenglicol-succinato (MePEG-S), monometoxipolietilenglicol-succinato de succinimidilo (MePEG-S-NHS), monometoxipolietilenglicol-amina (MePEG-NH₂), monometoxipolietilenglicol-tresilato (MePEG-TRES) y
15 monometoxipolietilenglicol-imidazolil-carbonilo (MePEG-IM).

71
70

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> MACDONALD, BRIAN R.
WEIS, JEFFERY KENNETH
YURKOW, EDWARD JOHN

<120> PEPTIDOS Y COMPUESTOS QUE SE UNEN A UN RECEPTOR

<130> TDP-5001-USANP

<140> 10/918,561
<141> 2004-08-13

<150> 60/498,740
<151> 2003-08-28

<160> 7

<170> PatentIn Ver. 3.3

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del
péptido sintético

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)
<223> Aminoácido variable

<400> 1
Trp Ser Xaa Trp Ser
1 5

<210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del
péptido

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)
<223> Ala, Cys, Glu, Gly, Ile, Leu, Met, Pro, Arg, Gln,
Ser, Thr, o Val, de preferencia Ala o Ile

72
71

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)
<223> Ala, Cys, Asp, Glu, Lys, Leu, Gln, Arg, Ser, Thr,
o Val, de preferencia Asp, Glu, o Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)
<223> Cys, Leu, Met, Pro, Gln, o Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)
<223> Phe, Lys, Leu, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, o Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)
<223> Cys, Phe, Ile, Leu, Met, Arg, Ser, Val, o Trp

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)
<223> Aminoácido variable

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)
<223> Ala, Asp, Glu, Gly, Lys, Met, Gln, Arg, Ser, Thr,
Val, o Tyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)
<223> b-(2-naftil)alanina

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)
<223> Cys, Gly, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Arg, o Val

<400> 2
Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 3
<211> 14
<212> PRT

23
72

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del péptido

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)

<223> b-(2-naftil)alanina

<400> 3

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Xaa Leu Ala Ala Arg Ala
1 5 10

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del péptido

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)

<223> b-(2-naftil)alanina

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15)

<223> sarcosina o beta-alanina

<400> 4

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Xaa Leu Ala Ala Arg Ala Xaa
1 5 10 15

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del péptido

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)

7A
73

4

<223> b-(2-naftil)alanina

<400> 5

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Xaa Leu Ala Ala Arg
1 5 10

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del péptido

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)

<223> b-(1-naftil)alanina

<400> 6

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Xaa Leu Ala Ala Arg
1 5 10

<210> 7

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de Secuencia Artificial: Motivo del péptido

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)

<223> b-(2-naftil)alanina

<220>

<221> MOD_RES

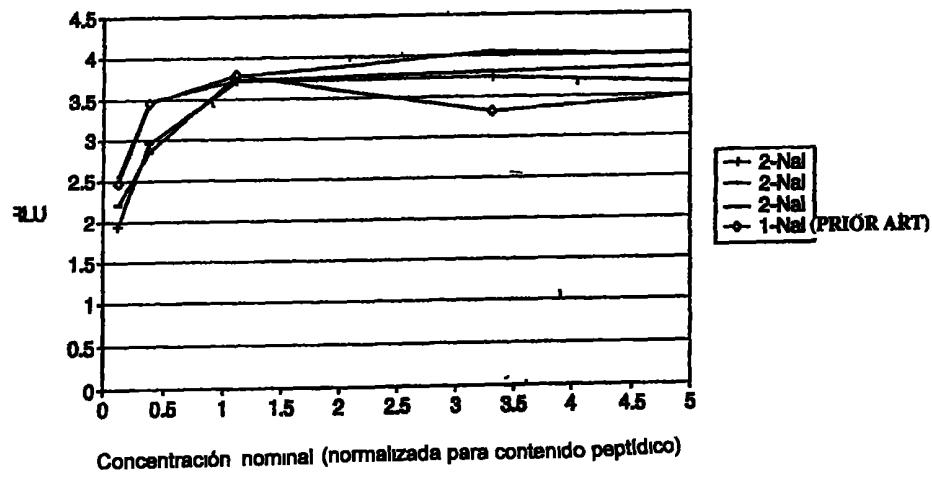
<222> (14)

<223> sarcosina o beta-alanina

<400> 7

Ile Glu Gly Pro Thr Leu Arg Gln Xaa Leu Ala Ala Arg Xaa
1 5 10

FIG. 1



/

FIG. 2

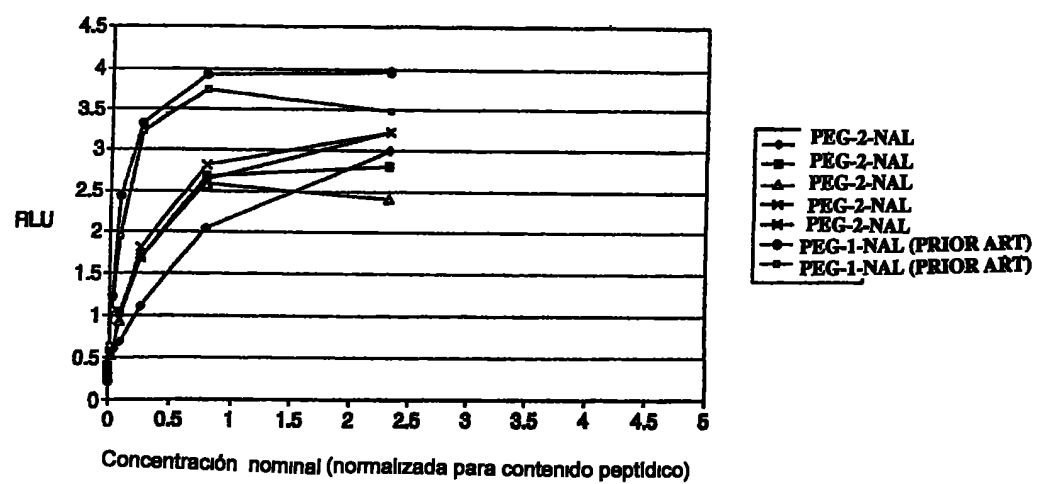
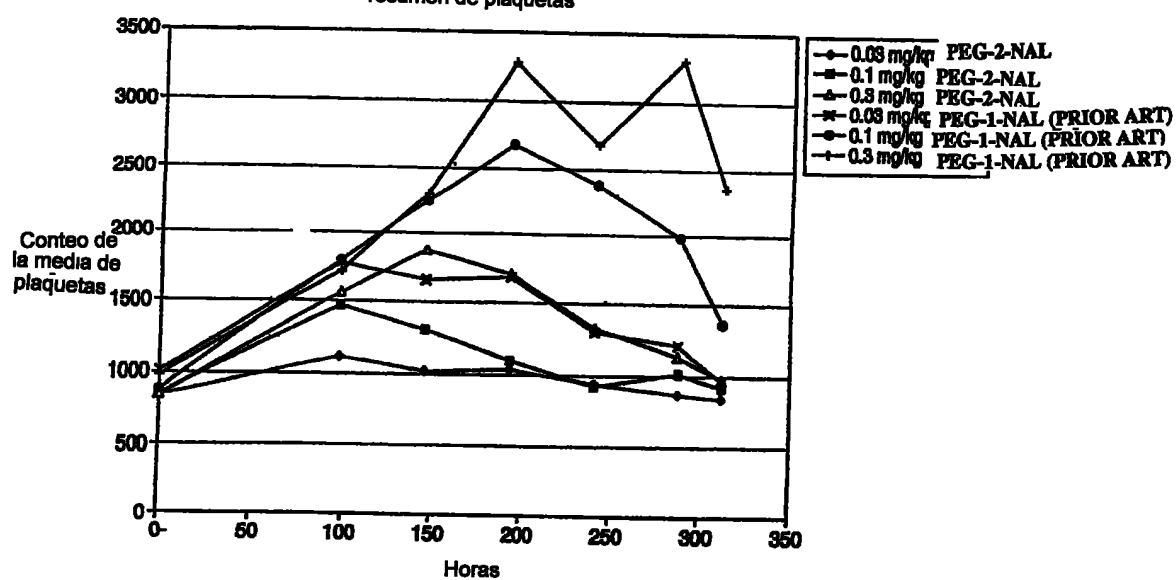


FIG. 3

resumen de plaquetas



L

FIG. 4

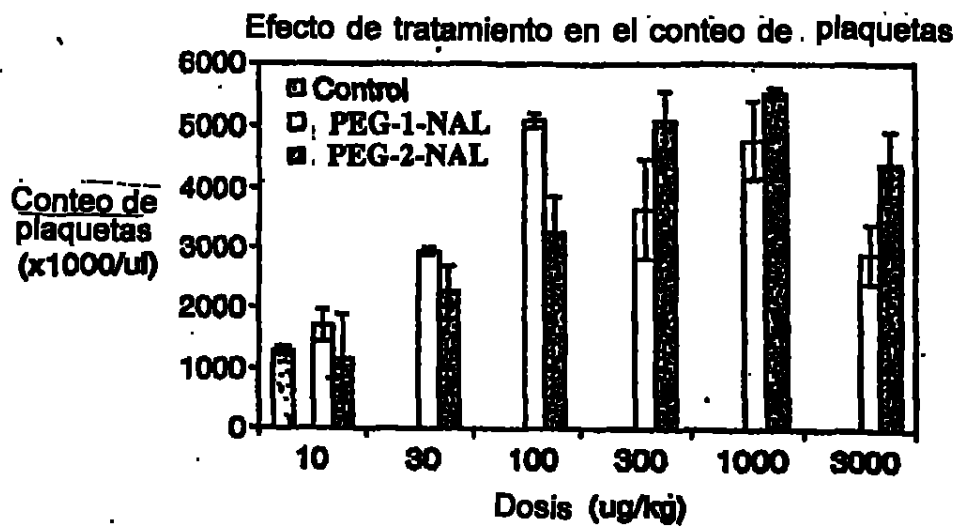
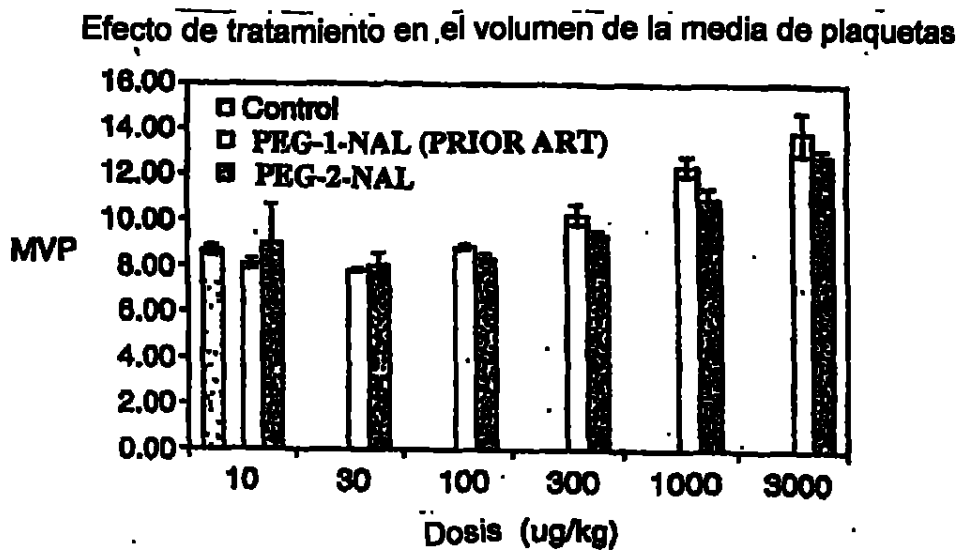


FIG. 5



PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form PCT/RO/101 PCT Request	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.50 (Build 0002.162)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
0-7	Applicant's or agent's file reference	TDP-5001-PCT
I	Title of Invention	PEPTIDES AND COMPOUNDS THAT BIND TO A RECEPTOR
II	Applicant	
II-1	This person is	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	3-DIMENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC.
II-5	Address	Eagleview Corporate Center 665 Stockton Drive Exton, Pennsylvania 19341 United States of America
II-6	State of nationality	US
II-7	State of residence	US
II-8	Telephone No.	732-524-1729
II-9	Facsimile No.	732-524-2808
II-10	e-mail	ldonnell2@corus.jnj.com
II-11	Applicant's registration No. with the Office	38,435

29
78

80
79

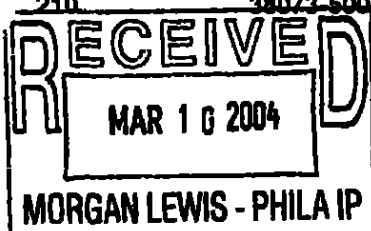


UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office
Address COMMISSIONER FOR PATENTS
PO Box 1458
Alexandria, Virginia 22311-1140
www.uspto.gov

APPL NO.	FILING OR 371 (a) DATE	ART UNIT	FIL FEE REC'D	ATTY. DOCKET NO	DRAWINGS	TOT CLMS	IND CLMS
00/498,740	08/28/2003		210	38073-5005PR	3		

028977
MORGAN, LEWIS & BOCKIUS LLP
1701 MARKET STREET
PHILADELPHIA, PA 19103-2921



CONFIRMATION NO. 8227
UPDATED FILING RECEIPT
[Barcode]
OC000000012038054

Date Mailed: 03/08/2004

Receipt is acknowledged of this provisional Patent Application. It will not be examined for patentability and will become abandoned not later than twelve months after its filing date. Be sure to provide the U.S. APPLICATION NUMBER, FILING DATE, NAME OF APPLICANT, and TITLE OF INVENTION when inquiring about this application. Fees transmitted by check or draft are subject to collection. Please verify the accuracy of the data presented on this receipt. If an error is noted on this Filing Receipt, please write to the Office of Initial Patent Examination's Filing Receipt Corrections, facsimile number 703-746-9195. Please provide a copy of this Filing Receipt with the changes noted thereon. If you received a "Notice to File Missing Parts" for this application, please submit any corrections to this Filing Receipt with your reply to the Notice. When the USPTO processes the reply to the Notice, the USPTO will generate another Filing Receipt incorporating the requested corrections (if appropriate).

Applicant(s)

Brian R. MacDonald, Bryn Mawr, PA;

If Required, Foreign Filing License Granted: 11/11/2003

Projected Publication Date: None, application is not eligible for pre-grant publication

Non-Publication Request: No

Early Publication Request: No

Title

Peptides and compounds that bind to a receptor

LICENSE FOR FOREIGN FILING UNDER
Title 35, United States Code, Section 184
Title 37, Code of Federal Regulations, 5.11 & 5.15

GRANTED

The applicant has been granted a license under 35 U.S.C. 184, if the phrase "IF REQUIRED, FOREIGN FILING

85
80

LICENSE GRANTED" followed by a date appears on this form. Such licenses are issued in all applications where the conditions for issuance of a license have been met, regardless of whether or not a license may be required as set forth in 37 CFR 5.15. The scope and limitations of this license are set forth in 37 CFR 5.15(a) unless an earlier license has been issued under 37 CFR 5.15(b). The license is subject to revocation upon written notification. The date indicated is the effective date of the license, unless an earlier license of similar scope has been granted under 37 CFR 5.13 or 5.14.

This license is to be retained by the licensee and may be used at any time on or after the effective date thereof unless it is revoked. This license is automatically transferred to any related applications(s) filed under 37 CFR 1.53(d). This license is not retroactive.

The grant of a license does not in any way lessen the responsibility of a licensee for the security of the subject matter as imposed by any Government contract or the provisions of existing laws relating to espionage and the national security or the export of technical data. Licensees should apprise themselves of current regulations especially with respect to certain countries, of other agencies, particularly the Office of Defense Trade Controls, Department of State (with respect to Arms, Munitions and Implements of War (22 CFR 121-128)); the Office of Export Administration, Department of Commerce (15 CFR 370.10 (j)); the Office of Foreign Assets Control, Department of Treasury (31 CFR Parts 500+) and the Department of Energy.

NOT GRANTED

No license under 35 U.S.C. 184 has been granted at this time, if the phrase "IF REQUIRED, FOREIGN FILING LICENSE GRANTED" DOES NOT appear on this form. Applicant may still petition for a license under 37 CFR 5.12, if a license is desired before the expiration of 6 months from the filing date of the application. If 6 months has lapsed from the filing date of this application and the licensee has not received any indication of a secrecy order under 35 U.S.C. 181, the licensee may foreign file the application pursuant to 37 CFR 5.15(b).

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	MACDONALD, Brian R.
III-1-5	Address	280 South Roberts Road Bryn Mawr, Pennsylvania 19010 United States of America
III-1-6	State of nationality	US
III-1-7	State of residence	US
III-1-11	Applicant's registration No. with the Office	38,435
III-2	Applicant and/or inventor	
III-2-1	This person is	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	WEIS, Jeffery Kenneth
III-2-5	Address	106 South Honeyman Road Whitehouse Station, New Jersey 08889 United States of America
III-2-6	State of nationality	US
III-2-7	State of residence	US
III-2-11	Applicant's registration No. with the Office	38,435
III-3	Applicant and/or inventor	
III-3-1	This person is	applicant and inventor
III-3-2	Applicant for	US only
III-3-4	Name (LAST, First)	YURKOW, Edward John
III-3-5	Address	123 Woods Road Hillsborough, New Jersey 08844 United States of America
III-3-6	State of nationality	US
III-3-7	State of residence	US
III-3-11	Applicant's registration No. with the Office	38,435

PCT REQUEST

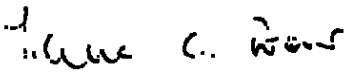
Original (for SUBMISSION)

IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	JOHNSON, Philip S.
IV-1-2	Address	One Johnson & Johnson Plaza New Brunswick, New Jersey 08933 United States of America
IV-1-3	Telephone No.	732-524-1729
IV-1-4	Facsimile No.	732-524-2808
IV-1-5	e-mail	ldonnell2@corus.jnj.com
IV-1-6	Agent's registration No.	27,200
IV-2	Additional agent(s)	additional agent(s) with same address as first named agent
IV-2-1	Name(s)	DONNELLY, Laura A. (30,435)
V	DESIGNATIONS	
V-1	The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.	
VI-1	Priority claim of earlier national application	
VI-1-1	Filing date	28 August 2003 (28.08.2003)
VI-1-2	Number	60/498,740
VI-1-3	Country	US
VI-2	Priority document request The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):	VI-1
VII-1	International Searching Authority Chosen	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (ISA/US)

83
82

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VII	Declarations	Number of declarations	
VII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	-	
VII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	
IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	5	✓
IX-2	Description	38	-
IX-3	Claims	7	-
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	4	-
IX-7	TOTAL	55	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-17	PCT-BAFE physical media	-	✓
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract	1	
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name	3-DIMENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC.	
X-1-2	Name of signatory	Laura A. Donnelly	
X-1-3	Capacity	Agent	

94
83

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

95
84

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/US
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

PCT REQUEST (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

Original (for SUBMISSION)

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	Date stamp of the receiving Office	
0-4	Form PCT/RO/101 (Annex) PCT Fee Calculation Sheet	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.50 (Build 0002.162)
0-6	Applicant's or agent's file reference	TDP-5001-PCT
2	Applicant	3-DIMENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC.
12	Calculation of prescribed fees	Fee amount/multiplier Total amounts (USD)
12-1	Transmittal fee T	⇒ 300
12-2-1	Search fee S	⇒ 1000
12-2-2	International search to be carried out by	US
12-3	International filing fee (first 30 sheets) I1	1134
12-4	Remaining sheets 25	
12-5	Additional amount (O) 12	
12-6	Total additional amount I2	300
12-7	I1 + I2 = I	1434
12-12	EASY Filing reduction R	-81
12-13	Total international filing fee (I-R) I	⇒ 1353
12-14	Fee for priority document Number of priority documents requested 1	
12-15	Fee per document (X) 20	
12-16	Total priority document fee P	⇒ 20
12-17	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+I+P)	⇒ 2673
12-18	Mode of payment	authorization to charge deposit account
12-20	Deposit account instructions The receiving Office	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
12-20-1	Authorization to charge the total fees indicated above	✓
12-20-2	Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above	✓
12-20-3	Authorization to charge the fee for priority document	✓
12-21	Deposit account No.	10-0750/TDP-5001-PCT/LAD
12-22	Date	13 August 2004 (13.08.2004)
12-23	Name and signature	Laura A. Donnelly <i>Laura A. Donnelly</i>

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 March 2005 (17.03.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/023834 A3

- (51) International Patent Classification: A61K 38/03, C07K 7/00
- (21) International Application Number: PCT/US2004/026422
- (22) International Filing Date: 13 August 2004 (13.08.2004)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/498,740 28 August 2003 (28.08.2003) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): 3-DIMENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; Bagleview Corporate Center, 665 Stockton Drive, Exton, PA 19341 (US).
- (72) Inventors; and
- (73) Inventors/Applicants (for US only): MACDONALD, Brian, R. [US/US]; 280 South Roberts Road, Bryn Mawr, PA 19010 (US). WEIS, Jeffery, Kenneth [US/US]; 106 South Honeyman Road, Whitehouse Station, NJ 08889 (US). YURKOW, Edward, John [US/US]; 123 Woods Road, Hillsborough, NJ 08844 (US).
- (74) Agents: JOHNSON, Philip, S. et al.; One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, NJ 08933 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GR, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- (88) Date of publication of the international search report: 6 May 2005
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PEPTIDES AND COMPOUNDS THAT BIND TO THROMBOPOIETIN RECEPTORS

(57) Abstract: Peptides and compounds that bind to and activate the thrombopoietin receptor (c-mpl or TPO-R) or otherwise act as a TPO agonist are disclosed.

WO 2005/023834 A3

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 March 2005 (17.03.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/023834 A3

(51) International Patent Classification⁷: A61K 38/03, C07K 7/00

(21) International Application Number:
PCT/US2004/026422

(22) International Filing Date: 13 August 2004 (13.08.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60498,740 28 August 2003 (28.08.2003) US

(71) Applicant (for all designated States except US): 3-DI-
MENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC. [US/US];
Regleview Corporate Center, 665 Stockton Drive, Exton,
PA 19341 (US).

(72) Inventors; and
(73) Inventors/Applicants (for US only): MACDONALD,
Brian, R. [US/US]; 280 South Roberts Road, Bryn Mawr,
PA 19010 (US). WELLS, Jeffery, Kenneth [US/US]; 106
South Honeyman Road, Whitehouse Station, NJ 08889
(US). YURKOW, Edward, John [US/US]; 123 Woods
Road, Hillsborough, NJ 08844 (US).

(74) Agents: JOHNSON, Philip, S. et al.; One Johnson &
Johnson Plaza, New Brunswick, NJ 08933 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI,
SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(88) Date of publication of the international search report:
6 May 2005

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PEPTIDES AND COMPOUNDS THAT BIND TO THROMBOPOIETIN RECEPTORS

(57) Abstract: Peptides and compounds that bind to and activate the thrombopoietin receptor (c-mpl or TPO-R) or otherwise act as
a TPO agonist are disclosed.

WO 2005/023834 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/26422¹

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 38/03; C07K 7/00.

US CL : 530/300, 323; 514/2.9

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 530/300, 323; 514/2.9

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Please See Continuation Sheet

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6,251,864 (DOWER et al) 26 June 2001 (26.06.2001). whole document, specifically claims.	1-48

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered with one or more other such documents, such combinations being obvious to a person skilled in the art

"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 January 2005 (19.01.2005)

Date of mailing of the international search report

15 MAR 2005

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Comptroller for Patents
P.O. Box 1430
Alexandria, Virginia 22313-1430

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Andrew D Koser

Telephone No. (571) 272-1600

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/26422

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 38/03; C07K 7/00.

US CL. : 530/300, 323; 514/2,9

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 530/300, 323; 514/2,9

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Please See Continuation Sheet

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6,251,864 (DOWER et al) 26 June 2001 (26.06.2001). whole document, specifically claims.	1-44

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"R" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reasons (as specified)

"O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" documents of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" documents of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"A" documents member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 January 2005 (19.01.2005)

Date of mailing of the international search report

15 MAR 2005

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1430
Alexandria, Virginia 22313-1430

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Andrew D Koser

Telephone No. (571) 272-1600

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

JOHNSON, Philip, S.
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, NJ 08933
United States of America

Date of mailing (day/month/year) 18 May 2005 (18.05.2005)	
Applicant's or agent's file reference TDP-5001-PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2004/026422	International filing date (day/month/year) 13 August 2004 (13.08.2004)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address 3-DIMENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC. Eagleview Corporate Center 866 Stockton Drive Exton, PA 19341 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 732-524-1729	
	Facsimile No. 732-524-2808	
	Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address ORTHO-MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC. U.S. Route 202 Raritan, NJ 08869 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 732-524-1729	
	Facsimile No. 732-524-2808	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☒ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☒ other: 3-DIMENSIONAL PHARMACEUTICALS, INC.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Anta NDIAYE (Fax 338-71-30)
Facsimile No. (41-22) 338.71.30	Telephone No. (41-22) 338 8847

72
91

Docket No. TDP-5001-USNP

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicants : Brian MacDonald et al. Confirmation No.: 4554
Appln. No. : 10/918,561
Filed : August 13, 2004
Title : PEPTIDES AND COMPOUNDS THAT BIND TO A RECEPTOR
Art Unit : 1653
Examiner : Unassigned

I hereby certify that this correspondence is being deposited with the
United States Postal Service as first class mail in an envelope addressed
to: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 on

January 27, 2006
(Date of Deposit)

Laura A. Donnelly
(Name of applicant, assignee, or Registered Representative)

/Laura A. Donnelly/
(Signature)

January 27, 2006
(Date of Signature)

Mail Stop Amendment
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

PRELIMINARY AMENDMENT

Dear Sir:

Prior to examination on the merits, please amend the above-identified application as follows:

23
92

Amendments to the Specification:

Please replace the originally filed specification and Abstract with the substitute specification and Abstract attached hereto. A marked up copy showing changes made is also provided.

Amendments to the Claims:

This listing of claims will replace all prior versions, and listings, of claims in the application:

1. (Currently Amended) A peptide compound that binds to a thrombopoietin receptor, wherein said peptide compound comprises (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), wherein X₁₀ is selected from the group consisting of sarcosine or β-alanine.
2. (Currently Amended) The peptide compound of claim 1, wherein said peptide compound is covalently attached to a hydrophilic polymer.
3. (Currently Amended) The peptide compound of claim 2, wherein said hydrophilic polymer has an average molecular weight of between about 500 to about 40,000 daltons.
4. (Currently Amended) The peptide compound of claim 2, wherein said hydrophilic polymer has an average molecular weight of between about 5,000 to about 20,000 daltons.
5. (Currently Amended) The peptide compound of claim 2, wherein said hydrophilic polymer is selected from the group consisting of polyethylene glycol, polypropylene glycol, polylactic acid and polyglycolic acid.
6. (Currently Amended) The peptide compound of claim 5, wherein said ~~compound is covalently attached to~~ hydrophilic polymer is polyethylene glycol.
7. (Currently Amended) The peptide compound of claim 1, wherein each of the dimeric subunits of said peptide compound is covalently attached to a hydrophilic polymer.
8. (Currently Amended) A pharmaceutical composition comprising a peptide compound of claim 1 in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.
9. (Currently Amended) A method for treating a patient suffering from a disorder that is susceptible to treatment with a thrombopoietin agonist, comprising administering to the patient a therapeutically effective dose or amount of a peptide compound of claim 1.
10. (Currently Amended) A physiologically active, substantially non-immunogenic water soluble polypeptide composition comprising a peptide compound of claim 1 coupled with a coupling agent to at least one polymer having a molecular weight of between about 500 to about 20,000 daltons selected from the group consisting of polyethylene glycol and polypropylene glycol, wherein said polymer is unsubstituted or substituted by alkoxy or alkyl groups, said alkoxy or alkyl groups possessing less than 5 carbon atoms.
11. (Original) The polypeptide composition in accordance with claim 10, wherein said polymer has a molecular weight of about 750 to about 15,000 daltons.

12. (Original) The polypeptide composition in accordance with claim 10, wherein said polymer has a molecular weight of about 5,000 to about 10,000 daltons.

13. (Original) The polypeptide composition in accordance with claim 10, wherein said polymer is polyethylene glycol.

14. (Currently Amended) A substantially non-immunogenic water soluble polypeptide composition comprising a ~~compound~~composition of claim 10 and a pharmaceutically acceptable carrier.

15. (Currently Amended) A method of activating a thrombopoietin receptor in a cell, comprising contacting said cell with an effective amount of a peptide compound which comprises (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), wherein X₁₀ is selected from the group consisting of sarcosine or β-alanine.

16. (Original) A method according to claim 15 wherein said cells comprise human megakaryocytes, platelets or CD34+ cells.

17. (Original) A method according to claim 15 wherein said cells comprise TPO-dependent cells.

18. (Original) A method of treating thrombocytopenia in a subject, comprising:

(a) obtaining a population of said subject's cells comprising megakaryocyte precursor cells;

(b) treating said cells according to the method of claim 15; and

(c) administering said treated cells to said subject, to increase the number of megakaryocytes present in said subject compared to that which would occur without such treatment.

19. (Original) A method according to claim 18 wherein said thrombocytopenia is due to chemotherapy.

20. (Original) A method according to claim 19 where said population of cells is obtained prior to said chemotherapy.

21. (Original) A method according to claim 18 wherein said thrombocytopenia is due to radiation therapy.

22. (Original) A method according to claim 21 where said population of cells is obtained prior to said radiation therapy.

23. (Currently Amended) A method of treating a patient suffering from thrombocytopenia, comprising administering to said patient a therapeutically effective dose of a

26
95

peptide compound which comprises (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), wherein X₁₀ is selected from the group consisting of sarcosine or β-alanine.

24. (Original) A method according to claim 23 wherein said thrombocytopenia is due to chemotherapy or radiation therapy.

25. (Original) A method according to claim 24 wherein a TPO antagonist is administered to said patient prior to said chemotherapy or radiation therapy.

26. (Original) A method according to claim 23 wherein said thrombocytopenia is due to bone marrow transfusion.

27. (Currently Amended) A method of prophylactically treating a patient at risk of thrombocytopenia, comprising administering to said patient a prophylactically effective amount of a peptide compound which comprises (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAARX₁₀)-K(NH₂)-(X₁₀RAAL(2-Nal)QRLTPGEI)-H, (SEQ ID NO: 7), wherein X₁₀ is selected from the group consisting of sarcosine or β-alanine.

28. (Currently Amended) A method according to claim 27 where said peptide compound is administered prior to bone marrow transplantation, chemotherapy, or radiation therapy.

29. (Currently Amended) A peptide compound that binds to thrombopoietin receptor, said peptide compound having:

(1) a molecular weight of less than about 8000 daltons, and

(2) a binding affinity to thrombopoietin receptor as expressed by an IC₅₀ of no more than about 100 mM, wherein said peptide compound comprises the following sequence of amino acids:

X₉ X₈ G X₁ X₂ X₃ X₄ X₅ X₆ X₇

where X₉ is A, C, E, G, I, L, M, P, R, Q, S, T, or V; X₈ is A, C, D, E, K, L, Q, R, S, T, or V, X₁ is C, L, M, P, Q, V; X₂ is F, K, L, N, Q, R, S, T or V; X₃ is C, F, I, L, M, R, S, V or W; X₄ is any of the 20 genetically coded L-amino acids; X₅ is A, D, E, G, K, M, Q, R, S, T, V or Y; X₇ is C, G, I, K, L, M, N, R or V, and X₆ is β-(2-naphthyl)alanine.

30. (Currently Amended) The peptide compound of claim 29, wherein said sequence of amino acids is cyclized.

31. (Currently Amended) The peptide compound of claim 29, wherein said sequence of amino acids is dimerized.

32. 4- (Currently Amended) A method of activating a thrombopoietin receptor in a cell, comprising contacting said cell with an effective amount of a peptide compound having a

molecular weight of less than about 8000 daltons, said peptide compound comprises the following sequence of amino acids:

$X_9 X_8 G X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7$ (SEQ ID NO:2)
where X_9 is A, C, E, G, I, L, M, P, R, Q, S, T, or V; X_8 is A, C, D, E, K, L, Q, R, S, T, or V; X_1 is C, L, M, P, Q, V; X_2 is F, K, L, N, Q, R, S, T or V; X_3 is C, F, I, L, M, R, S, V or W; X_4 is any of the 20 genetically coded L-amino acids; X_5 is A, D, E, G, K, M, Q, R, S, T, V or Y; X_7 is C, G, I, K, L, M, N, R or V, and X_6 is β -(2-naphthyl)alanine.

33. (Currently Amended) The peptide compound of claim 32, wherein said sequence of amino acids is cyclized.

34. (Currently Amended) The peptide compound of claim 32, wherein said sequence of amino acids is dimerized.

35. (Currently Amended) A method of activating a thrombopoietin receptor in a cell, comprising contacting said cell with an effective amount of a peptide compound covalently attached to a hydrophilic polymer, said peptide compound comprises the amino acid sequence + E-G-P-T-L-R-Q (2-Nal)-L-A-A-R-A-I-E-G-P-T-L-R-Q (2-Nal)-L-A-A-R (Sar) (SEQ ID NO:7):

36. (Original) The method of claim 35 wherein said hydrophilic polymer has an average molecular weight of between about 500 to about 40,000 daltons.

37. (Original) The method of claim 35 wherein said hydrophilic polymer has an average molecular weight of between about 5,000 to about 20,000 daltons.

38. (Original) The method claim 35 wherein said polymer is selected from the group consisting of polyethylene glycol, polypropylene glycol, polylactic acid and polyglycolic acid.

39. (Currently Amended) The method of claim 38 wherein said peptide compound is covalently attached to polyethylene glycol.

40. (Original) A method according to claim 35 wherein said cells are in vivo.

41. (Original) A method according to claim 35 wherein said cells are in vitro.

42. (Original) A method according to claim 35 wherein said cells comprise human megakaryocytes, platelets or CD34+ cells.

43. (Original) A method according to claim 35 wherein said cells comprise TPO-dependent cells.

44. (Original) A method of treating thrombocytopenia in a subject, comprising:

(a) obtaining a population of said subject's cells comprising megakaryocyte precursor cells;

(b) treating said cells according to the method of claim 35; and

(c) administering said treated cells to said subject, to increase the number of megakaryocytes present in said subject compared to that which would occur without such treatment.

45. (Original) A method according to claim 44 wherein said thrombocytopenia is due to chemotherapy.

46. (Original) A method according to claim 45 where said population of cells is obtained prior to said chemotherapy.

47. (Original) A method according to claim 44 wherein said thrombocytopenia is due to radiation therapy.

48. (Original) A method according to claim 47 where said population of cells is obtained prior to said radiation therapy.

49. (Currently Amended) The peptide compound of claim 29, wherein the peptide compound comprises the following amino acid sequence: I-E-G-P-T-L-R-Q (2-Nal)-L-A-A-R-A-I-E-G-P-T-L-R-Q (2-Nal) L A A R (Sar) (SEQ ID NO:7).

50. (New) A peptide compound that binds to a thrombopoietin receptor, wherein said peptide compound comprises (H-IEGPTLRQ(2-Nal)LAAR(Sar))₂K-NH₂.

51. (New) The peptide compound of claim 50. said peptide compound is covalently attached to a hydrophilic polymer.

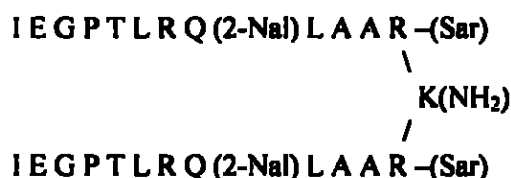
52. (New) The peptide compound of claim 51, wherein said hydrophilic polymer is selected from the group consisting of polyethylene glycol, polypropylene glycol, polylactic acid and polyglycolic acid.

53. (New) The peptide compound of claim 52, wherein said hydrophilic polymer is polyethylene glycol.

54. (New) The peptide compound of claim 53, wherein said polyethylene glycol has an average molecular weight of between about 5,000 to about 20,000 daltons.

55. (New) The peptide compound of claim 53, wherein the polyethylene glycol is selected from the group consisting of monomethoxypolyethylene glycol (MePEG-OH), monomethoxypolyethylene glycol-succinate (MePEG-S), monomethoxypolyethylene glycol-succinimidyl succinate (MePEG-S-NHS), monomethoxypolyethylene glycol-amine (MePEG-NH₂), monomethoxypolyethylene glycol-tresylate (MePEG-TRES), and monomethoxypolyethylene glycol-imidazolyl-carbonyl (MePEG-IM).

56. (New) A peptide compound that binds to the thrombopoietin receptor having the following formula:



wherein (2-Nal) is β -(2-naphthyl)alanine and (Sar) is sarcosine

57. (New) The peptide compound of claim 56, said peptide compound is covalently attached to a hydrophilic polymer.

58. (New) The peptide compound of claim 57, wherein said hydrophilic polymer is selected from the group consisting of polyethylene glycol, polypropylene glycol, polylactic acid and polyglycolic acid.

59. (New) The peptide compound of claim 57, wherein said hydrophilic polymer is polyethylene glycol.

60. (New) The peptide compound of claim 59, wherein said polyethylene glycol has an average molecular weight of between about 5,000 to about 20,000 daltons.

61. (New) The peptide compound of claim 59, wherein the polyethylene glycol is selected from the group consisting of monomethoxypolyethylene glycol (MePEG-OH), monomethoxypolyethylene glycol-succinate (MePEG-S), monomethoxypolyethylene glycol-succinimidyl succinate (MePEG-S-NHS), monomethoxypolyethylene glycol-amine (MePEG-NH₂), monomethoxypolyethylene glycol-tresylate (MePEG-TRES), and monomethoxypolyethylene glycol-imidazolyl-carbonyl (MePEG-IM).

62. (New) The peptide compound of claim 56, wherein each of the dimeric subunits of said peptide compound is covalently attached to a hydrophilic polymer.

63. (New) The peptide compound of claim 62, wherein said hydrophilic polymer is selected from the group consisting of polyethylene glycol, polypropylene glycol, polylactic acid and polyglycolic acid.

64. (New) The peptide compound of claim 63, wherein said hydrophilic polymer is polyethylene glycol.

65. (New) The peptide compound of claim 64, wherein said polyethylene glycol has an average molecular weight of between about 5,000 to about 20,000 daltons.

66. (New) The peptide compound of claim 65, wherein the polyethylene glycol is selected from the group consisting of monomethoxypolyethylene glycol (MePEG-OH),

100
99

monomethoxypolyethylene glycol-succinate (MePEG-S), monomethoxypolyethylene glycol-succinimidyl succinate (MePEG-S-NHS), monomethoxypolyethylene glycol-amine (MePEG-NH₂), monomethoxypolyethylene glycol-tresylate (MePEG-TRES), and monomethoxypolyethylene glycol-imidazolyl-carbonyl (MePEG-IM).

for
100

Appln. No. 10/918,561

Amendments to the Drawings:

The attached sheets of drawings include changes to Figs. 1-5. These sheets, which include Figs. 1-5, replace the original sheets including Figs. 1-5.

REMARKS

The specification, Abstract, claims and drawings are amended for clarity of the invention. No new matter is added.

Early consideration and prompt allowance are respectfully requested. Should the Office require additional information, it is invited to contact Applicants' representative at the telephone number listed below.

Respectfully submitted,

/Laura A. Donnelly/

By: _____
Laura A. Donnelly
Reg. No. 38,435

Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, NJ 08933-7003
(732) 524-1729
Dated: January 27, 2006

Attachments:

Substitute Specification
Substitute Abstract
Marked-up Copy of Substitute Specification
Marked-up Copy of Substitute Abstract
Replacement Sheets for Drawings

103
102

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
Radicación: 06021510 00000000
Fecha (DD): 2006-03-03 16:17:04
Trámite: 011 PCT-PATENT 37R FASE NULI 411 PRESENTA:
Deendencia: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ()	MODELO DE UTILIDAD ()	USUARIO ()	RADICADOR ()
-Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	()
-Descripción de la invención.	()	()	()
-Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()			
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	()
-Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

ESQUEMA DE TRAZADO ()			
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	()
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	()	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

Firma Responsable: 
Fecha: _____

106
~~107~~
103

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 06-21510

Fecha: 03 de Marzo de 2.006

Se informa que:

Desde fecha 10 de Febrero de 1.999,
del folio 104.727 al folio 104.732 del
libro de Protocolo No 363, obra el poder
No. 19164 conferido por ORTHO-MCNELL
PHARMACEUTICAL, INC.

domiciliado(a) en RARITAM, NEW JERSEY-E.U.A.
al doctor (a) JIMENA ESCOBAR URIBE y/o
IGNACIO ESCOBAR URIBE y/o JULIANA ESCOBAR
URIBE.

Representante en Santafé de Bogotá D.C.

Los mismos.

Facultad para desistir y sustituir si.

Revisado Jramos.

107
104

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
ESCOBAR URIBE JIMENA
Apoderado(a) y/o Representante de
ORTHO-MCNEIL PHARMACEUTICAL INC.

REFERENCIA	Radicación No.	6 21510
	Solicitud internacional	US2004/026422
	Fecha inicio fase nacional	28/03/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	6536

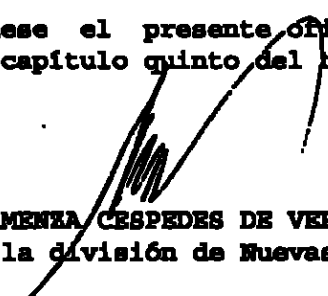
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular Única 5.2.9)

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMEN CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 16 JUN 2006
jramos