

COMPUESTOS DE PÉPTIDOS Y PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES QUE USAN LOS MISMOS

Solicitud relacionada

La presente solicitud reivindica el beneficio de la prioridad de la solicitud israelí No. 272074 presentada el 15 de enero de 2020, cuyos contenidos se incorporan en la presente memoria como referencia en su totalidad.

Declaración de listado de secuencias

El archivo ASCII, titulado 84727 SequenceListing.txt, creado el 13 de enero de 2021, que comprende 12.288 bytes, presentado simultáneamente con la presentación de la presente solicitud se incorpora en la presente memoria como referencia.

Campo y antecedentes de la invención

La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se relaciona con composiciones y procedimientos para utilizar los mismos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias.

Subsiste una necesidad insatisfecha de composiciones novedosas que puedan servir para atenuar la respuesta al estrés celular e inmunitario en el tejido normal, de una manera que sea específica, segura y eficaz, reduciendo de esta manera la gravedad de las enfermedades degenerativas asociadas al estrés y la inflamación inducida por estrés.

El péptido LPPLPYP (SEQ ID NO: 42, también conocido como Stressin-1 e IPL344) es un péptido corto de 7 aminoácidos que protege las células de varios

tipos de presiones proapoptóticas y activa el sistema de señalización Akt. La estructura del IPL344 se asemeja a los sitios de unión de las proteínas adaptadoras. Se ha propuesto tener un mecanismo de acción que comprenda imitar a dichas proteínas y activar procesos de protección celular a través de rutas

5 Akt y posiblemente otras rutas.

Las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional Nos: WO 2006/021954 y WO2012/160563 divulgan el uso del péptido LPPLPYP (SEQ ID NO: 42) para el tratamiento de enfermedades tales como la ALS.

Sumario de la invención

10 De acuerdo con un aspecto de la presente invención se proporciona un péptido aislado que tiene cinco o siete aminoácidos que consiste en una secuencia de aminoácidos representada por la fórmula $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7$ (SEQ ID NO: 45), en la que

(i) X_1 , se selecciona del grupo que consiste en leucina, d-leucina, d-valina, d-arginina y está ausente;

15

(ii) X_2 se selecciona del grupo que consiste en dimetilprolina (dMP), prolina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) y d-prolina;

(iii) X_3 se selecciona del grupo que consiste en dMP, prolina Aib y d-prolina;

20 (iv) X_4 se selecciona del grupo que consiste en histidina, serina, valina, leucina, d-leucina y treonina;

(v) X_5 es prolina o alanina;

(vi) X₆ se selecciona del grupo que consiste en tirosina, d-valina, ácido d-aspártico, triptófano y fenilalanina; y

(vii) X₇ se selecciona del grupo que consiste en prolina, dMP, d-prolina y está ausente

5 el péptido es capaz de reducir la cantidad de pérdida de peso del bazo y/o timo inducida por dexametasona en un ratón, con la condición que el péptido no consiste en la secuencia como se establece en las SEQ ID NOs 42, 43 o 44.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende el péptido divulgado en la presente
10 memoria como un agente activo y un portador fisiológicamente aceptable.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención se proporciona un péptido aislado que tiene no más de diez aminoácidos que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1-33 y 34, en el que el péptido es capaz de reducir la cantidad de pérdida
15 de peso del bazo y/o timo inducida por dexametasona en un ratón.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 6-33 y 34.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido
20 consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 6-12 y 13.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1-4 y 5.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido
5 consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1-33 y 34.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido es un péptido grapado.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido es
10 un péptido cíclico.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el orden de la secuencia se invierte y todos los aminoácidos son del tipo D.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido se adjunta a una fracción que penetra en la célula.

15 De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, la fracción que penetra en la célula se adjunta a un terminal N del péptido.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, el péptido es para su uso en el tratamiento de a enfermedad asociada con apoptosis.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, la enfermedad
20 asociada con apoptosis es una enfermedad inflamatoria o degenerativa.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, la enfermedad inflamatoria es una enfermedad autoinmunitaria.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, la enfermedad degenerativa es una enfermedad neurodegenerativa.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, la enfermedad asociada con apoptosis se selecciona del grupo que consiste en degeneración macular relacionada con la edad (AMD), retinitis pigmentosa, apoplejía e infarto de miocardio.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y/o científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que entienden comúnmente un experto con conocimientos básicos en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque se pueden utilizar procedimientos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente memoria en la práctica o prueba de realizaciones de la invención, a continuación, se describen procedimientos y/o materiales ejemplares. En caso de conflicto, prevalecerá la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser necesariamente limitativos.

Descripción de las realizaciones específicas de la invención

La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a composiciones y procedimientos de uso de las mismas para el tratamiento enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias.

Antes de explicar en detalle al menos una realización de la invención, se debe entender que la invención no se limita necesariamente en su aplicación a

los detalles expuestos en la siguiente descripción o ejemplificados por los Ejemplos. La invención es susceptible de otras realizaciones o de ser puesta en práctica o llevada a cabo de varias maneras.

El péptido multiprolina LPPLPYP (SEQ ID NO: 42), también conocido
5 como IPL344 y Stressin-1) es un péptido corto de 7 aminoácidos que protege a las células de varios tipos de las presiones proapoptóticas y activa el sistema de señalización de Akt. Es candidato para el tratamiento de enfermedades degenerativas, inflamatorias y autoinmunitarias.

Mientras investigaban la contribución de los aminoácidos individuales del
10 péptido, los presentes inventores encontraron sorprendentemente que los reemplazos de aminoácidos particulares de la secuencia central mostraron una mejora significativa en la reducción de la cantidad de pérdida de peso del bazo y/o timo inducida por dexametasona en ratones, mientras que otros reemplazos y/o supresiones disminuyeron severamente la reducción. Además, se mostró
15 que estos péptidos minimizan la disminución en el número de células del timo y el bazo inducidas por dexametasona.

Los presentes inventores encontraron que la mayoría de estos péptidos se ajustaban a la fórmula expuesta en la SEQ ID NO: 45 y proponen el uso de dichos péptidos para tratar enfermedades degenerativas, inflamatorias y
20 autoinmunitarias.

Aunque redujeron adicionalmente la presente invención a la práctica, los presentes inventores notaron que los reemplazos de prolina con el aminoácido

sintético Aib en ubicaciones particulares también condujeron a péptidos que tenían una mejora potenciada en la reducción de la cantidad de pérdida de peso del bazo y/o timo inducida por dexametasona en ratones, y que minimizan la disminución en el número de células del timo y el bazo inducidas por dexametasona.

El término “péptido”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un polímero de aminoácidos naturales o sintéticos, que abarca péptidos nativos (ya sean productos de degradación, polipéptidos sintetizados sintéticamente o polipéptidos recombinantes) y peptidomiméticos (normalmente, péptidos sintetizados sintéticamente), así como peptoides y semipeptoides que son análogos de polipéptidos, que pueden tener, por ejemplo, modificaciones que hacen que los péptidos sean incluso más estables mientras están en un cuerpo o más capaces de penetrar en las células.

La presente invención también cubre derivados (con modificación y/o adición de una función química a la cadena lateral del aminoácido, sin un cambio químico en la estructura principal peptídica) y análogos (con modificación y/o adición de una función química dentro de la estructura principal peptídica), por ejemplo, una modificación del terminal N o del terminal C o una modificación del enlace de péptidos.

Dichas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, la modificación del terminal N, la modificación del terminal C, la modificación del enlace de polipéptidos, que incluyen, pero no se limitan a, CH₂-NH, CH₂-S, CH₂-S=O,

O=C-NH, CH₂-O, CH₂-CH₂, S=C-NH, CH=CH o CF=CH, modificaciones de la estructura principal y modificación de residuos. Los procedimientos para preparar los compuestos peptidomiméticos son bien conocidos en la técnica y se especifican, por ejemplo, en Quantitative Drug Design, C.A. Ramsden Gd.,
 5 Capítulo 17.2, F. Choplin Pergamon Press (1992), que se incorpora como referencia como si se estableciera completamente en la presente memoria. Se proporcionan a continuación a este respecto detalles adicionales.

Los enlaces de polipéptidos (-CO-NH-) dentro del polipéptido se pueden sustituir, por ejemplo, por enlaces N-metilados (-N(CH₃)-CO-), enlaces éster
 10 (-C(R)H-C-O-O-C(R)-N-), enlaces de cetometileno (-CO-CH₂-), enlaces α-aza (-NH-N(R)-CO-), en los que R es cualquier alquilo, por ejemplo, metilo, enlaces carba (-CH₂-NH-), enlaces hidroxietileno (-CH(OH)-CH₂-), enlaces tioamida (-CS-NH-), enlaces dobles olefínicos (-CH=CH-), enlaces retroamida (-NH-CO-), derivados de polipéptidos (-N(R)-CH₂-CO-), en los que R es la cadena lateral
 15 “normal”, presente de forma natural sobre el átomo de carbono.

Estas modificaciones pueden ocurrir en cualquiera de los enlaces a lo largo de la cadena de polipéptidos e incluso en varios (2-3) al mismo tiempo.

Los aminoácidos no naturales se resumen en la Tabla 2, a continuación.

Como se utiliza en la presente memoria en la memoria descriptiva y en la
 20 sección de reivindicaciones a continuación, se entiende que el término “aminoácido” o “aminoácidos” incluye los 20 aminoácidos de origen natural; aquellos aminoácidos a menudo modificados postraduccionalmente *in vivo*, que

incluyen, por ejemplo, hidroxiprolina, fosfoserina y fosfotreonina; y otros aminoácidos inusuales que incluyen, entre otros, ácido 2-aminoadípico, hidroxilisina, isodesmosina, nor-valina, nor-leucina y ornitina. Adicionalmente, el término “aminoácido” incluye tanto D- como L-aminoácidos (estereoisómeros).

- 5 Las Tablas 1 y 2 a continuación enumeran los aminoácidos de origen natural (Tabla 1) y los aminoácidos no convencionales o modificados (Tabla 2) que se pueden utilizar con la presente invención.

Tabla 1

Aminoácido	Abreviatura de tres letras	Símbolo de una letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Ácido aspártico	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamina	Gln	Q
Ácido glutámico	Glu	E
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K

Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V
Cualquier aminoácido como los anteriores	Xaa	X

Tabla 2

Aminoácido no convencional	Código	Aminoácido no convencional	Código
ornitina	Orn	hidroxiprolina	Hyp
Ácido α -aminobutírico	Abu	Aminonorbornil-carboxilato	Norb
D-alanina	Dala	aminociclopropano- carboxilato	Cpro
D-arginina	Darg	N-(3- guanidinopropil)glicina	Narg
D-asparagina	Dasn	N-(carbamilmetil)glicina	Nasn

D-ácido aspártico	Dasp	N-(carboximetil)glicina	Nasp
D-cisteína	Dcys	N-(tiometil)glicina	Ncys
D-glutamina	Dgln	N-(2-carbamiletil)glicina	Ngln
D-ácido glutámico	Dglu	N-(2-carboxietil)glicina	Nglu
D-histidina	Dhis	N-(imidazolietil)glicina	Nhis
D-isoleucina	Dile	N-(1-metilpropil)glicina	Nile
D-leucina	Dleu	N-(2-metilpropil)glicina	Nleu
D-lisina	Dlys	N-(4-aminobutil)glicina	Nlys
D-metionina	Dmet	N-(2-metiltioetil)glicina	Nmet
D-ornitina	Dorn	N-(3-aminopropil)glicina	Norn
D-fenilalanina	Dphe	N-bencilglicina	Nphe
D-prolina	Dpro	N-(hidroximetil)glicina	Nser
D-serina	Dser	N-(1-hidroxietil)glicina	Nthr
D-treonina	Dthr	N-(3-indolietil) glicina	Nhtrp
D-triptófano	Dtrp	N-(<i>p</i> -hidroxifenil)glicina	Ntyr
D-tirosina	Dtyr	N-(1-metiletil)glicina	Nval
D-valina	Dval	N-metilglicina	Nmgly
D-N-metilalanina	Dnmala	L-N-metilalanina	Nmala
D-N-metilarginina	Dnmarg	L-N-metilarginina	Nmarg
D-N-metilasparagina	Dnmasn	L-N-metilasparagina	Nmasn
D-N-metilasparatato	Dnmasp	Ácido L-N-metilaspártico	Nmasp

D-N-metilcisteína	Dnmcys	L-N-metilcisteína	Nmcys
D-N-metilglutamina	DnmglN	L-N-metilglutamina	NmglN
D-N-metilglutamato	Dnmglu	Ácido L-N-metilglutámico	Nmglu
D-N-metilhistidina	Dnmhis	L-N-metilhistidina	Nmhis
D-N-metilisoleucina	Dnmile	L-N-metilisoleucina	Nmile
D-N-metilleucina	Dnmleu	L-N-metilleucina	Nmleu
D-N-metillisina	Dnmlys	L-N-metillisina	Nmlys
D-N-metilmetionina	Dnmmet	L-N-metilmetionina	Nmmet
D-N-metilornitina	Dnmorn	L-N-metilornitina	Nmorn
D-N-metilfenilalanina	Dnmphe	L-N-metilfenilalanina	Nmphe
D-N-metilprolina	Dnmpro	L-N-metilprolina	Nmpro
D-N-metilserina	Dnmser	L-N-metilserina	Nmser
D-N-metiltreonina	Dnmthr	L-N-metiltreonina	Nmthr
D-N-metilriptófano	Dnmtrp	L-N-metilriptófano	Nmtrp
D-N-metiltirosina	Dnmtyr	L-N-metiltirosina	Nmtyr
D-N-metilvalina	Dnmval	L-N-metilvalina	Nmval
L-norleucina	Nle	L-N-metilnorleucina	Nmnle
L-norvalina	Nva	L-N-metilnorvalina	Nmnva
L-etilglicina	Etg	L-N-metil-etilglicina	Nmetg
L-t-butilglicina	Tbug	L-N-metil-t-butilglicina	Nmtbug

L-homofenilalanina	Hphe	L-N-metil-homofenilalanina	Nmhph
α -naftilalanina	Anap	N-metil- α -naftilalanina	Nmanap
Penicilamina	Pen	N-metilpenicilamina	Nmpen
Ácido γ -aminobutírico	Gabu	N-metil- γ -aminobutirato	Nmgabu
Ciclohexilalanina	Chexa	N-metil-ciclohexilalanina	Nmchexa
ciclopentilalanina	Cpen	N-metil-ciclopentilalanina	Nmcpen
α -amino- α -metilbutirato	Aabu	N-metil- α -amino- α -metilbutirato	Nmaabu
Ácido α -aminoisobutírico	Aib	N-metil- α -aminoisobutirato	Nmaib
D- α -metilarginina	Dmarg	L- α -metilarginina	Marg
D- α -metilasparagina	Dmasn	L- α -metilasparagina	Masn
D- α -metilaspartato	Dmasp	L- α -metilaspartato	Masp
D- α -metilcisteína	Dmcys	L- α -metilcisteína	Mcys
D- α -metilglutamina	Dmgln	L- α -metilglutamina	Mgln
D- α -metil ácido glutámico	Dmglu	L- α -metilglutamate	Mglu
D- α -metilhistidina	Dmhis	L- α -metilhistidina	Mhis
D- α -metilisoleucina	Dmile	L- α -metilisoleucina	Mile
D- α -metilleucina	Dmleu	L- α -metilleucina	Mleu
D- α -metillisina	Dmlys	L- α -metillisina	Mlys

D- α -metilmetionina	Dmmet	L- α -metilmetionina	Mmet
D- α -metilornitina	Dmorn	L- α -metilornitina	Morn
D- α -metilfenilalanina	Dmphe	L- α -metilfenilalanina	Mphe
D- α -metilprolina	Dmpro	L- α -metilprolina	Mpro
D- α -metilserina	Dmser	L- α -metilserina	Mser
D- α -metiltreonina	Dmthr	L- α -metiltreonina	Mthr
D- α -metilriptófano	Dmtrp	L- α -metilriptófano	Mtrp
D- α -metiltirosina	Dmtyr	L- α -metiltirosina	Mtyr
D- α -metilvalina	Dmval	L- α -metilvalina	Mval
N-ciclobutilglicina	Ncbut	L- α -metilnorvalina	Mnva
N-cicloheptilglicina	Nchep	L- α -metiletilglicina	Metg
N-ciclohexilglicina	Nchex	L- α -metil- <i>t</i> -butilglicina	Mtbug
N-ciclodecilglicina	Ncdec	L- α -metil-homofenilalanina	Mhphe
N-ciclododecilglicina	Ncdod	α -metil- α -naftilalanina	Manap
N-ciclooctilglicina	Ncoct	α -metilpenicilamina	Mpen
N-ciclopropilglicina	Ncpro	α -metil- γ -aminobutirato	Mgabu
N-cicloundecilglicina	Ncund	α -metil-ciclohexilalanina	Mchexa
N-(2-aminoetil)glicina	Naeg	A-metil-ciclopentilalanina	Mcpen
N-(2,2-difeniletil)glicina	Nbhm	N-(N-(2,2-difeniletil) carbamilmetil-glicina	Nnbhm

N-(3,3-difenilpropil)glicina	Nbhe	N-(N-(3,3-difenilpropil) carbamilmetil-glicina	Nnbhe
1-carboxi-1-(2,2-difenil etilamino)ciclopropano	Nmbc	Ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-3-carboxílico	Tic
fosfoserina	pSer	fosfotreonina	pThr
fosfotirosina	pTyr	O-metil-tirosina	
Ácido 2-aminoadípico		hidroxilisina	
Dimetil prolina	dmp		

Tabla 2 Continuación.

Como se mencionó, los terminales N y C de los péptidos de la presente invención pueden estar protegidos por grupos funcionales. Los grupos
5 funcionales adecuados se describen en Green and Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, Capítulos 5 y 7, 1991, cuyas enseñanzas se incorporan en la presente memoria como referencia. Los grupos protectores preferidos son aquellos que facilitan el transporte del compuesto adherido al mismo a una célula, por ejemplo, al reducir la hidrofiliidad y
10 aumentar la lipofiliidad de los compuestos.

Estas fracciones se pueden escindir *in vivo*, ya sea mediante hidrólisis o enzimáticamente, dentro de la célula. Los grupos protectores de hidroxilo incluyen grupos protectores de ésteres, carbonatos y carbamato. Los grupos

protectores de amina incluyen grupos alcoxi y ariloxi carbonilo, como se describió anteriormente para los grupos protectores de terminal N. Los grupos protectores de ácido carboxílico incluyen ésteres alifáticos, bencílicos y de arilo, como se describió anteriormente para los grupos protectores de terminal C. En una
 5 realización, se protege el grupo ácido carboxílico en la cadena lateral de uno o más residuos de ácido glutámico o ácido aspártico en un péptido de la presente invención, preferentemente con un éster de metilo, etilo, bencilo o bencilo sustituido.

Los ejemplos de grupos protectores N-terminales incluyen grupos acilo
 10 (-CO-R1) y grupos alcoxi carbonilo o ariloxi carbonilo (-CO-O-R1), en los que R1 es un grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, aromático o aromático sustituido. Los ejemplos específicos de grupos acilo incluyen acetilo, (etil)-CO-, n-propil-CO-, iso-propil-CO-, n-butil-CO-, sec-butil-CO-, t-butil-CO-, hexilo, lauroilo, palmitoilo, miristoilo, estearilo, oleoil fenil-CO-, fenilo sustituido-
 15 CO-, bencil-CO- y (bencilo sustituido)-CO-. Ejemplos de grupos alcoxi carbonilo y ariloxi carbonilo incluyen CH₃-O-CO-, (etil)-O-CO-, n-propil-O-CO-, iso-propil-O-CO-, n-butil-O-CO-, sec-butil-O-CO-, t-butil-O-CO-, fenil-O-CO-, fenilo sustituido-O-CO- y bencil-O-CO-, (bencilo sustituido)- O-CO-. Adamantan, naftaleno, miristoleilo, tolueno, bifenilo, cinnamoilo, nitrobenzoilo, toluoilo, furoilo,
 20 benzoilo, ciclohexano, norbornano, Z-caproico. Para facilitar la N-acilación, pueden estar presentes de uno a cuatro residuos de glicina en el terminal N de la molécula.

El grupo carboxilo en el terminal C del compuesto se puede proteger, por ejemplo, por una amida (es decir, el grupo hidroxilo en el terminal C se reemplaza con -NH_2 , -NHR_2 y $\text{-NR}_2\text{R}_3$) o éster (es decir, el grupo hidroxilo en el terminal C se reemplaza con -OR_2). R_2 y R_3 son independientemente un grupo alifático, alifático sustituido, bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido. Además, tomados junto con el átomo de nitrógeno, R_2 y R_3 pueden formar un anillo heterocíclico C_4 a C_8 con aproximadamente 0-2 heteroátomos adicionales, tales como nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los ejemplos de anillos heterocíclicos adecuados incluyen piperidinilo, pirrolidinilo, morfolino, tiomorfolino o piperazinilo. Los ejemplos de grupos protectores de terminal C incluyen -NH_2 , -NHCH_3 , $\text{-N(CH}_3)_2$, -NH(etilo) , -N(etilo)_2 , -N(metil) (etilo) , -NH(bencilo) , $\text{-N(alquilo C1-C4)(bencilo)}$, -NH(fenilo) , $\text{-N(alquilo C1-C4) (fenilo)}$, -OCH_3 , -O-(etilo) , -O-(n-propilo) , -O-(n-butilo) , -O-(iso-propilo) , -O-(sec- butilo) , -O-(t-butilo) , -O-bencilo y -O-fenilo .

Los péptidos de la presente invención también pueden comprender fracciones que no con aminoácidos, tales como por ejemplo fracciones hidrófobas (varios hidrocarburos lineales, ramificados, cíclicos, policíclicos o heterocíclicos y derivados de hidrocarburos) adheridos a los péptidos; agentes de penetración que no son péptidos; varios grupos protectores, especialmente cuando el compuesto es lineal, que se adhieren a los terminales del compuesto para disminuir la degradación. Los grupos químicos (que no son aminoácidos) presentes en el compuesto se pueden incluir para mejorar diversas propiedades

fisiológicas tales como; disminución de la degradación o depuración; disminución de la repulsión por varias bombas celulares, mejora de las actividades inmunogénicas, mejora de varios modos de administración (tales como adhesiones de varias secuencias que permiten la penetración a través de varias
5 barreras, a través del intestino, etc.); especificidad aumentada, afinidad aumentada, toxicidad disminuida y similares.

La adhesión del componente de la secuencia de aminoácidos de los péptidos de la invención a otros agentes que no son aminoácidos puede ser mediante ligamiento covalente, por formación de complejos no covalente, por
10 ejemplo, por formación de complejos para un polímero hidrófobo, que se puede degradar o escindir produciendo un compuesto capaz de liberación sostenida; al atrapar la parte de aminoácido del péptido en liposomas o micelas para producir el péptido final de la invención. La asociación puede ser mediante el atrapamiento de la secuencia de aminoácidos dentro del otro componente
15 (liposoma, micela) o la impregnación de la secuencia de aminoácidos dentro de un polímero para producir el péptido final de la invención.

De acuerdo con una realización particular, el péptido se adhiere a una fracción de penetración celular.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “fracción de
20 penetración celular” se refiere a una fracción (por ejemplo, un lípido, tal como el ácido palmítico) que potencia la translocación de un péptido adherido a través de una membrana celular. En una realización particular, la fracción que penetra

en las células no es una fracción de péptidos. La fracción se puede adherir al terminal N o C.

Los péptidos de la invención pueden ser lineales o cíclicos (la ciclación puede mejorar la estabilidad). La ciclación puede tener lugar por cualquier medio conocido en la técnica. Cuando el compuesto se compone predominantemente de aminoácidos, la ciclación puede ser a través del terminal N al C, terminal N a cadena lateral y terminal N a la estructura principal, terminal C a cadena lateral, terminal C a la estructura principal, cadena lateral a la estructura principal y cadena lateral a cadena lateral, así como ciclación de estructura principal a estructura principal. La ciclación del péptido también puede tener lugar a través de fracciones orgánicas que no son aminoácidos comprendidos en el péptido.

Los presentes inventores también conciben péptidos grapados.

El término “péptido grapado” como se utiliza en la presente memoria se refiere a un péptido que tiene un número seleccionado de aminoácidos estándar o no estándar, y que tiene adicionalmente al menos dos fracciones capaces de someterse a reacción para promover la formación de enlaces carbono-carbono, que se ha puesto en contacto con un reactivo para generar al menos un agente de entrecruzamiento entre las al menos dos fracciones, que modula, por ejemplo, la estabilidad del péptido.

El término “grapado”, tal como se utiliza en la presente memoria, introduce en un péptido al menos dos fracciones capaces de someterse a reacción para promover la formación de enlaces carbono-carbono que se pueden poner en

contacto con un reactivo para generar al menos un agente de entrecruzamiento entre las al menos dos fracciones. El grapado proporciona una restricción sobre una estructura secundaria, tal como una estructura .alfa.-hélice. La longitud y la geometría del agente de entrecruzamiento se pueden optimizar para mejorar el
5 rendimiento del contenido de estructura secundaria deseado. La restricción proporcionada puede, por ejemplo, evitar que la estructura secundaria se despliegue y/o puede reforzar la forma de la estructura secundaria. Una estructura secundaria que no se puede desplegar es, por ejemplo, más estable.

Los péptidos de la presente invención se pueden sintetizar
10 bioquímicamente tal como al utilizar técnicas estándar en fase sólida. Estos procedimientos incluyen síntesis en fase sólida exclusiva, procedimientos de síntesis en fase sólida parcial, condensación de fragmentos, síntesis en solución clásica. Los procedimientos de síntesis de polipéptidos en fase sólida son bien conocidos en la técnica y están descritos adicionalmente por John Morrow
15 Stewart and Janis Dillaha Young, Solid Phase Polypeptide Syntheses (2ª Ed., Pierce Chemical Company, 1984).

Los presentes inventores también contemplan técnicas en fase líquida que son particularmente adecuadas para péptidos pequeños.

La síntesis de péptidos a gran escala se describe por Andersson
20 Biopolymers 2000;55(3):227-50.

Los péptidos sintéticos se pueden purificar mediante cromatografía líquida de alta resolución preparativa [Creighton T. (1983) Proteins, structure and

molecular principles. WH Freeman and Co. N.Y.] y cuya composición se puede confirmar a través de la secuenciación de aminoácidos.

También se pueden utilizar técnicas recombinantes para generar los péptidos de la presente invención. Para producir un péptido de la presente
5 invención utilizando tecnología recombinante, se liga un polinucleótido que codifica el péptido de la presente invención en un vector de expresión de ácido nucleico, que comprende la secuencia de polinucleótidos bajo el control transcripcional de una secuencia cis-reguladora (por ejemplo, secuencia promotora) adecuado para dirigir la transcripción específica o inducible de tejido,
10 constitutiva de los polipéptidos de la presente invención en las células anfitrionas.

Además de ser sintetizables en células anfitrionas, los péptidos de la presente invención también se pueden sintetizar utilizando sistemas de expresión *in vitro*. Estos procedimientos son bien conocidos en la técnica y los componentes del sistema están disponibles comercialmente.

15 Los péptidos descritos en la presente memoria son capaces de reducir la cantidad de pérdida de peso del bazo y/o del timo inducida por dexametasona en un ratón, por ejemplo, después de la inyección (IP) con 100 µg de dexametasona. Adicionalmente, son capaces de minimizar la disminución del número de células del timo y del bazo inducidas por dexametasona.

20 En otra realización, los péptidos descritos en la presente memoria son capaces de interferir y bloquear la secreción de TNF- α e IL-6 por células de

macrófagos en respuesta a activadores innatos tales como lipopolisacáridos (LPS) y oligonucleótidos CpG.

Adicional o alternativamente, los péptidos descritos en la presente memoria son capaces de reducir, evitar o inhibir la apoptosis en células eucariotas. Independientemente del mecanismo por el cual los péptidos de la invención median las respuestas de estrés, y sin pretender estar ligado a teoría alguna particular o mecanismo de acción, se postula que los péptidos pueden ser capaces de activar el eje Akt-CREB. El péptido se puede probar al analizar su capacidad para activar la quinasa Akt y/o el factor de transcripción de proteína de unión al elemento de respuesta cAMP (CREB), como se describió con más detalle en Herkel et al., Immunology, 2017, 151, páginas 474-480, cuyos contenidos se incorporan en la presente memoria como referencia.

Métodos de medición de apoptosis: La apoptosis es un proceso activo de autodestrucción dirigido por genes de la célula y se asocia con cambios morfológicos y bioquímicos característicos. La condensación nuclear y citoplasmática y la fragmentación de la célula que muere en cuerpos apoptóticos unidos a la membrana son características típicas de la apoptosis. Otra característica de la muerte celular apoptótica es la degradación del ADN cromosómico en fragmentos oligonucleosómicos después de la activación de nucleasas específicas.

Por “inhibir la apoptosis” o “inhibir la actividad apoptótica” se entiende cualquier disminución en el número de células que se someten a apoptosis en

relación con un control no tratado (es decir, células no expuestas a los péptidos de la invención). Preferentemente, la disminución es de al menos el 25 %, más preferentemente la disminución es de al menos el 50 %, más preferentemente la disminución es de al menos el 65 % y lo más preferentemente la disminución es de al menos el 80 %.

La citometría de flujo ofrece una amplia variedad de posibilidades para medir la apoptosis. Se han establecido e implementado diferentes procedimientos, algunos que tiñen la superficie celular y otros que tiñen intracelularmente.

Uno de los primeros enfoques fue, además de la observación de que las células apoptóticas se encogen y tienen mayor granularidad intracelular, para teñir con fluorocromos específicos de ADN (por ejemplo, yoduro de propidio [PI], bromuro de etidio [EtBr]). Tan pronto como se induce un golpe letal, el ADN comienza a cambiar su perfil. El ADN apoptótico no solo consiste en ADN fragmentado (visualizado como bandas más cortas, denominada escalera de ADN, en un gel de agarosa), sino que también se digiere parcialmente en nucleótidos individuales, de modo que los fluorocromos, como PI o EtBr, tienen menos ADN para teñir (Nicoletti et al., 1991). Esto se observa normalmente por un desplazamiento a la izquierda, llamado pico sub-G1, en el canal de detección de fluorocromo específico en el FACScan™ (de Becton Dickinson, EE.UU.).

Otro procedimiento es el marcado final mediado por desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) de las rupturas de la hebra de ADN (TUNEL). El

procedimiento TUNEL detecta rupturas de hebras de ADN en células en proceso de apoptosis. La TdT es una enzima que cataliza la adición de trifosfato de desoxirribonucleótido a los extremos 3'-OH del ADN de cadena doble o sencilla. A diferencia de las células normales, los núcleos de células apoptóticas incorporan nucleótidos exógenos (dUTP)-DIG en presencia de TdT. Un fragmento de anticuerpo anti-DIG con un fluorocromo conjugado permite la visualización de células apoptóticas. Un aumento de células apoptóticas provoca un mayor número de fragmentos de ADN y, de acuerdo con lo anterior, una fluorescencia más brillante. Una ventaja de este procedimiento es la especificidad muy alta (Gavrieli et al., 1992). Una desventaja de este procedimiento es que es costoso y solo se puede utilizar para un pequeño conjunto de muestras, ya que requiere mucho tiempo. Por lo tanto, no es aplicable para grandes programas de cribado.

La pérdida de polaridad de la membrana celular y la presentación de mayores cantidades de fosfatidilserina (PS) en el exterior de la membrana celular durante la fase temprana de la apoptosis ha llevado a un nuevo enfoque. La anexina V es una proteína de unión a fosfolípidos dependiente de calcio con alta afinidad por PS. La integridad de la membrana celular se mantiene en las fases de apoptosis temprana e intermedia. Las células apoptóticas tempranas e intermedias muestran una mayor unión de Anexina-FITC y son principalmente negativas para la tinción de PI. Las etapas apoptóticas tardías y las células necróticas se vuelven doblemente positivas, debido a la presentación de PS en

la superficie y la tinción de PI de los ácidos nucleicos intracelulares debido a la desintegración de la membrana. Este procedimiento también es costoso y laborioso.

Otros procedimientos para medir la apoptosis *in vivo* e *in vitro* se divulgan
5 en las Patentes de EE.UU. Nos. 6,726,895 y 6,723,567.

Por lo tanto, de acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un péptido aislado que tiene cinco o siete aminoácidos que consiste en una secuencia de aminoácidos representada por la fórmula X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 (SEQ ID NO: 45), en la que

- 10 (i) X_1 , se selecciona del grupo que consiste en leucina, d-leucina, d-valina, d-arginina y está ausente;
- (ii) X_2 se selecciona del grupo que consiste en dMP, prolina, Aib y d-prolina;
- (iii) X_3 se selecciona del grupo que consiste en dMP, prolina, Aib y d-
15 prolina;
- (iv) X_4 se selecciona del grupo que consiste en histidina, serina, valina, leucina, d-leucina y treonina;
- (v) X_5 es prolina o alanina;
- (vi) X_6 se selecciona del grupo que consiste en tirosina, d-valina, ácido
20 d-aspartico, triptófano y fenilalanina; y
- (vii) X_7 se selecciona del grupo que consiste en prolina, dMP, d-prolina y está ausente,

el péptido es capaz de reducir la cantidad de pérdida de peso del bazo y/o timo inducida por dexametasona en un ratón, con la condición que el péptido no consiste en la secuencia como se establece en las SEQ ID NOs 42, 43 o 44.

El péptido de acuerdo con este aspecto de la presente invención puede tener cinco o 7 aminoácidos en longitud. De acuerdo con lo anterior, cuando X_1 está ausente, entonces X_7 también está ausente.

Ejemplos de péptidos que se contemplan por este aspecto de la presente invención se establecen en las SEQ ID NOs: 6-34.

En una realización, el péptido consiste en una cualquiera de las secuencias establecidas en las SEQ ID NOs: 6-34.

En otra realización, el péptido consiste en una de las secuencias establecidas en las SEQ ID NOs: 6-13.

Se apreciará que para este aspecto de la presente invención, los aminoácidos se establecen en la fórmula de acuerdo con la SEQ ID NO: 45 y no se consideran mutaciones conservadoras/no conservadoras distintas de las especificadas. Adicionalmente, cuando un estereoisómero en particular aparece en la fórmula, está claro que no se puede reemplazar por el otro estereoisómero.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un péptido aislado que tiene no más de diez aminoácidos que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1-33 y 34, en la que el péptido es capaz de reducir la cantidad de pérdida de peso del bazo y/o timo inducida por dexametasona en un ratón.

En una realización, el péptido de este aspecto del presente tiene 10 aminoácidos en longitud.

En una realización, el péptido de este aspecto del presente tiene 9 aminoácidos en longitud.

5 En una realización, el péptido de este aspecto del presente tiene 8 aminoácidos en longitud.

En una realización, el péptido de este aspecto del presente tiene 7 aminoácidos en longitud.

10 En una realización, el péptido de este aspecto del presente tiene 6 aminoácidos en longitud.

En una realización, el péptido de este aspecto del presente tiene 5 aminoácidos en longitud.

Ejemplos de dichos péptidos incluyen aquellos establecidos en las SEQ ID NOs: 1-34, y más específicamente aquellos establecidos en las SEQ ID NOs: 1-5.

15 Para cualquiera de los péptidos descritos en la presente memoria, la presente invención también contempla péptidos retroinversos. Dichos péptidos son resistentes a las proteasas y consisten en D-aminoácidos en orden inverso, lo que da como resultado una estructura principal de péptidos alterada pero sin cambios en la orientación de las cadenas laterales.

20 Los péptidos descritos en la presente memoria se pueden utilizar para el tratamiento de una miríada de enfermedades, que incluyen aquellas asociadas

con respuestas asociadas al estrés. Estas incluyen afecciones patológicas tales como enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, apoplejía, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer), infarto de miocardio, exposición a radiación o agentes quimioterapéuticos, inflamación, lesiones (por ejemplo, quemaduras y lesiones del sistema nervioso central), envejecimiento celular, hipertermia, convulsiones, hipoxias (por ejemplo, isquemia y apoplejía), y en tejidos y órganos trasplantados antes del trasplante.

Estas condiciones también incluyen enfermedades autoinmunitarias, caracterizadas por un estado de inmunización de un individuo contra al menos uno de los constituyentes normales del cuerpo. Estos fenómenos se observan en particular en patologías que incluyen, pero no se limitan a, infecciones asociadas con SLE (enfermedad de Lupus Eritematoso Sistémico), síndrome de Gougerot-Sjogren (o enfermedad de Sjogren) y poliartritis reumatoide, así como patologías tales como sarcoidosis y osteopenia, espondiloartritis, esclerodermia, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), hipertiroidismo, enfermedad de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, enfermedad de Crohn, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, púrpura hemorrágica idiopática, diabetes insulín dependiente, miastenia, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, glomerulonefritis posestreptocócica, psoriasis y esterilidad espontánea, así como fenómenos inmediatos o tardíos observados durante los rechazos de injertos y la

enfermedad de injerto contra anfitrión. En otra realización, los péptidos de la invención son útiles para el tratamiento de isquemia o infarto de miocardio.

De acuerdo con una realización particular, la enfermedad es ALS.

Otras enfermedades contempladas por la presente invención incluyen,
5 pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, degeneración secundaria después de un traumatismo, apoplejía, intoxicación del SNC, glaucoma, degeneración macular, diabetes tipo 1, lupus eritematoso sistémico, uveítis autoinmunitaria, enfermedad de injerto contra anfitrión, rechazo del injerto, artritis, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS),
10 enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), síndrome de dificultad respiratoria del adulto (ARDS), psoriasis, aterosclerosis, infarto de miocardio, enfermedad por radiación, hipertermia, hipoxia, hígado tóxico fulminante, insuficiencia renal, infertilidad y muchos otros.

El fenómeno del rechazo del injerto es un estado de inmunización de un
15 individuo contra constituyentes extraños (fluidos corporales tales como sangre, líquido cefalorraquídeo, etc., células, tejidos, órganos, anticuerpos, etc.) implantados deliberadamente en el paciente.

Como se utiliza en la presente memoria, los términos “trastorno degenerativo”, “enfermedad degenerativa” y “afección degenerativa” se refieren
20 a cualquier trastorno, enfermedad o afección caracterizada por proliferación celular inapropiada o muerte celular inapropiada o, en algunos casos, ambas, o apoptosis aberrante o desregulada. Estas afecciones también incluyen

afecciones en las que, aunque apropiada y regulada a nivel de una sola célula, la apoptosis excesiva se asocia con disfunción o falla de órganos.

En una realización, los péptidos son útiles para prevenir la muerte celular en células o tejidos no malignos en un sujeto que tiene un trastorno neoplásico y se somete a quimioterapia y/o radioterapia para el tratamiento del cáncer.

Los términos “enfermedad inflamatoria” y “afección inflamatoria”, como se utilizan en la presente memoria, significan cualquier enfermedad o afección en la que una respuesta inflamatoria excesiva o no regulada conduce a síntomas inflamatorios excesivos, daño al tejido del anfitrión o pérdida de la función del tejido.

En una realización, la enfermedad o afección inflamatoria es una enfermedad autoinmunitaria.

En otra realización, la enfermedad o afección inflamatoria tiene una etiología asociada con la producción de al menos una citoquina proinflamatoria seleccionada de IL-6 y TNF- α .

En otra realización, la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, degeneración secundaria después de un traumatismo, apoplejía, intoxicación del SNC, glaucoma, degeneración macular, infarto de miocardio, enfermedad por radiación, hipertermia, hipoxia, hígado tóxico fulminante, insuficiencia renal e infertilidad.

En aún otra realización, la enfermedad incluye retinitis pigmentosa y degeneración macular.

En otra realización, la enfermedad incluye apoplejía o infarto de miocardio.

5 Los péptidos se pueden proporcionar por sí mismos o como parte de una composición farmacéutica, donde se mezclan con portadores o excipientes adecuados.

 Como se utiliza en la presente memoria, una “composición farmacéutica” se refiere a una preparación de uno o más de los ingredientes activos descritos
10 en la presente memoria con otros componentes químicos tales como portadores y excipientes fisiológicamente adecuados. El propósito de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto a un organismo.

 En la presente memoria, el término “ingrediente activo” se refiere a los péptidos responsables del efecto biológico.

15 De aquí en adelante, las frases “portador fisiológicamente aceptable” y “portador farmacéuticamente aceptable” que se pueden utilizar indistintamente se refieren a un portador o diluyente que no causa irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. Bajo estas frases se incluye un adyuvante.

20 La preparación de composiciones farmacéuticas que contienen péptidos o polipéptidos como ingredientes activos es bien conocida en la técnica. Normalmente, dichas composiciones se preparan como procesables, ya sea

como soluciones líquidas o suspensiones, sin embargo, también se pueden preparar formas sólidas, que se pueden suspender o solubilizar antes de la inyección. La preparación también se puede emulsionar. El ingrediente terapéutico activo se mezcla con portadores inorgánicos y/u orgánicos, que son

5 farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Los portadores son excipientes (vehículos) farmacéuticamente aceptables que comprenden sustancias más o menos inertes cuando se agregan a una composición farmacéutica para conferir una consistencia o forma adecuada a la composición. Los portadores adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina,

10 dextrosa, glicerol, etanol o similares y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, la composición puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes y agentes tamponadores del pH, que potencian la eficacia del ingrediente activo.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de los péptidos descritos en la

15 presente memoria se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, al determinar la IC_{50} (la concentración que proporciona un 50 % de inhibición) y la LD_{50} (dosis letal que causa la muerte en 50 % de los animales probados) para un compuesto en cuestión. Los datos obtenidos de estos

20 ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden utilizar para formular un intervalo de dosificación para uso en humanos. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la ruta de

administración utilizada. La formulación exacta, la ruta de administración y la dosificación pueden ser elegidas por el médico individual en vista de la afección del paciente. (Véase, por ejemplo, Fingl et al., 1975).

La cantidad de agente activo utilizada en una composición de
5 administración de la presente invención es una cantidad efectiva para lograr el propósito del agente activo particular para la indicación objetivo. La cantidad de agente activo en las composiciones es normalmente una cantidad farmacológica, biológica, terapéutica o químicamente eficaz. Sin embargo, la cantidad puede ser menor que esa cantidad cuando la composición se utiliza en una forma de
10 unidad de dosificación porque la forma de unidad de dosificación puede contener una pluralidad de compuestos o agentes activos en una sola composición o puede contener una cantidad farmacológica, biológica, terapéutica o químicamente eficaz dividida. A continuación, la cantidad eficaz total se puede administrar en unidades acumulativas que contienen, en total, una cantidad
15 eficaz del principio activo.

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido de la invención es una cantidad que, cuando se administra a un paciente, es capaz de ejercer una actividad antiapoptótica y/o una actividad antiinflamatoria. Los ensayos para detectar la actividad antiapoptótica del péptido de la invención incluyen, pero no
20 se limitan a, tinción de ADN con fluorocromos específicos tales como yoduro de propidio y bromuro de etidio, ensayos de anexina V, ensayos TUNEL y similares; ciertos ejemplos no limitantes de dichos ensayos se presentan en los Ejemplos

a continuación. Los ensayos para detectar la actividad antiinflamatoria de los péptidos también son bien conocidos en la técnica.

Aunque una dosificación adecuada de un péptido de la invención varía dependiendo de la ruta de administración, edad, peso corporal, sexo o las
5 condiciones del paciente, y al final se debe determinar por el médico, la dosis adecuada para humanos adultos (por ejemplo, cuando se administra i.v.) puede estar generalmente entre aproximadamente 2-6 mg de peso corporal, preferentemente entre aproximadamente 2-4 mg/kg.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden
10 uno o más compuestos de la presente invención y uno o más excipientes o diluyentes. En una realización, uno o más de los compuestos, o solvatos o sales de estos compuestos.

El término “sal farmacéuticamente aceptable”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere a sales que son sustancialmente no tóxicas para
15 los organismos vivos. Las sales farmacéuticamente aceptables típicas incluyen aquellas sales preparadas por reacción de los compuestos de la presente invención con un ácido orgánico o mineral farmacéuticamente aceptable. Dichas sales también se conocen como sales de adición de ácido.

Las composiciones que comprenden los compuestos y los agentes
20 activos tienen utilidad en el suministro de agentes activos a sistemas biológicos seleccionados y en una mayor o mejorada biodisponibilidad del agente activo en comparación con la administración del agente activo sin el agente de suministro.

El suministro se puede mejorar al suministrar más agente activo durante un período de tiempo, o suministrar agente activo en un período de tiempo particular (tal como para efectuar un suministro más rápido o retardado) o durante un período de tiempo (como un suministro sostenido).

5 Las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención pueden formularse de manera convencional utilizando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares, que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. La formulación
10 adecuada depende de la ruta de administración elegida.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar local o sistémicamente por cualquier ruta convencional y apropiada que incluye, pero no se limita a, oral, intraperitoneal, parenteral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, transdérmica, intratecal, tópica, rectal, bucal, inhalatoria o
15 intranasal.

Para inyección, los compuestos de la invención se pueden formular en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o tampón de solución salina fisiológica. Para la administración de transmucosa, se utilizan en la formulación
20 penetrantes apropiados para la barrera que se va a permear. Dichos penetrantes, por ejemplo, DMSO o polietilenglicol, son generalmente conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas, que se pueden utilizar por vía oral, incluyen cápsulas de ajuste a presión elaboradas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas elaboradas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener los ingredientes
5 activos mezclados con agentes de carga tales como lactosa, aglutinantes tales como almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes.

En cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o
10 polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden agregar estabilizadores. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosificaciones adecuadas para la ruta de administración elegida.

Alternativamente, los compuestos de la presente invención se pueden incorporar en preparaciones líquidas orales tales como suspensiones,
15 soluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos u oleosos, por ejemplo. Más aún, las formulaciones que contienen estos compuestos se pueden presentar como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales, tales como agentes de suspensión, como jarabe de
20 sorbitol, metilcelulosa, glucosa/jarabe de azúcar, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio y grasas comestibles hidrogenadas; agentes emulsionantes, tales como lecitina, monooleato de

sorbitán o goma arábica; vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), tales como aceite de almendras, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos, propilenglicol y alcohol etílico; y conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de metilo o propilo y ácido sórbico.

5 Para la administración por inhalación, los péptidos para uso de acuerdo con la presente invención se suministran convenientemente en forma de una presentación de pulverización en aerosol desde un paquete presurizado o un nebulizador con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de
10 carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar al proporcionar una válvula para suministrar una cantidad medida. Se pueden formular cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador que contengan una mezcla de polvo del péptido y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

15 Las composiciones farmacéuticas de la invención también son útiles para aplicación tópica e intralesional. Como se utiliza en la presente memoria, el término “tópico” significa “que pertenece a un área de superficie particular”, por ejemplo, piel y mucosa, y el agente tópico aplicado a un área determinada de la superficie afectará solo el área a la que se aplica. Las formulaciones de
20 péptidos/análogos de péptidos se pueden administrar por vía tópica como gel, ungüento, crema, emulsión, formulación de liberación sostenida que incluye un parche transdérmico y pueden comprender liposomas y cualquier otro portador

farmacéuticamente aceptable adecuado para la administración por vía tópica del fármaco. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria también pueden comprender portadores o excipientes sólidos o en fase de gel adecuados. Los ejemplos de dichos portadores o excipientes incluyen, pero no
5 se limitan a, carbonato de calcio, fosfato de calcio, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Si se desea, las composiciones de la presente invención se pueden presentar en un paquete o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que
10 contienen el ingrediente activo. El paquete puede comprender, por ejemplo, una lámina de metal o de plástico, tal como un empaque blíster. El paquete o dispositivo dispensador puede ir acompañado de instrucciones de administración. El paquete o dispensador también puede incluir un aviso asociado con el recipiente en la forma prescrita por una agencia gubernamental
15 que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, cuyo aviso que refleja la aprobación por parte de la agencia de la forma de las composiciones o administración humana o veterinaria. Dicho aviso, por ejemplo, puede ser un marcado aprobado por la Administración de Fármacos y Alimentos de los EE.UU. para medicamentos recetados o un inserto de producto aprobado.
20 Las composiciones que comprenden una preparación de la invención formulada en un portador farmacéutico compatible también se pueden preparar, colocar en

un recipiente apropiado y marcar para el tratamiento de una afección indicada, como adicionalmente se detalló anteriormente.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “aproximadamente” se refiere a $\pm 10\%$.

5 Los términos “comprende”, “que comprende”, “incluye”, “que incluye”, “que tiene” y sus conjugados significan “que incluye, pero no se limita a”.

El término “que consiste en” significa “que incluye y se limita a”.

El término “que consiste esencialmente en” significa que la composición, el procedimiento o la estructura pueden incluir ingredientes, etapas y/o partes
10 adicionales, pero solo si los ingredientes, pasos y/o partes adicionales no alteran materialmente las características básicas y novedosas de la composición, procedimiento o estructura reivindicada.

Como se utiliza en la presente memoria, la forma singular “un”, “una” y “el” incluyen referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo
15 contrario. Por ejemplo, el término “un compuesto” o “al menos un compuesto” puede incluir una pluralidad de compuestos, que incluye mezclas de los mismos.

A lo largo de la presente solicitud, se pueden presentar varias realizaciones de la presente invención en un formato de intervalo. Se debe entender que la descripción en formato de intervalo es meramente por
20 conveniencia y brevedad y no se debe interpretar como una limitación inflexible del alcance de la invención. De acuerdo con lo anterior, se debe considerar que la descripción de un intervalo ha divulgado específicamente todos los

subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, se debe considerar que la descripción de un intervalo tal como del 1 al 6 tiene subintervalos divulgados específicamente tales como desde 1 hasta 3, desde 1 hasta 4, desde 1 hasta 5, desde 2 hasta 4, desde 2 hasta 6, desde 3 hasta 6, etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

Siempre que se indique un intervalo numérico en la presente memoria, se pretende que incluya cualquier número citado (fraccionario o entero) dentro del intervalo indicado. Las frases “que varía/intervalo entre” un primer número indicado y un segundo número indicado y “que varía /intervalo desde” un primer número indicado “hasta” un segundo número indicado se utilizan indistintamente en la presente memoria y pretenden incluir el primer y el segundo número indicado y todos los números fraccionarios y enteros entre ellos.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “procedimiento” se refiere a formas, medios, técnicas y procedimientos para llevar a cabo una tarea determinada, que incluyen, pero no se limitan a, aquellos modos, medios, técnicas y procedimientos conocidos o desarrollados fácilmente a partir de formas, medios, técnicas y procedimientos por profesionales de las artes químicas, farmacológicas, biológicas, bioquímicas y médicas.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “tratar” incluye anular, inhibir sustancialmente, ralentizar o revertir la progresión de una afección,

mejorar sustancialmente los síntomas clínicos o estéticos de una afección o prevenir sustancialmente la aparición de síntomas clínicos o estéticos de una afección.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que se describen,
5 para mayor claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también se pueden proporcionar en combinación en una sola realización. A la inversa, diversas características de la invención, que se describen, por brevedad, en el contexto de una sola realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada o como adecuada en cualquier otra
10 realización descrita de la invención. Ciertas características descritas en el contexto de varias realizaciones no deben considerarse características esenciales de esas realizaciones, a menos que la realización no funcione sin esos elementos.

Diversas realizaciones y aspectos de la presente invención, tal como se
15 delinearon anteriormente y se reivindicaron en la sección de reivindicaciones a continuación, encuentran respaldo experimental en los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

Ahora se hace referencia a los siguientes ejemplos, que junto con las descripciones anteriores ilustran algunas realizaciones de la invención de
20 manera no limitativa.

Generalmente, la nomenclatura utilizada en la presente memoria y los procedimientos de laboratorio utilizados en la presente invención incluyen

técnicas moleculares, bioquímicas, microbiológicas y de ADN recombinante. Dichas técnicas se explican detalladamente en la literatura. Véase, por ejemplo, "Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook et al., (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" Volumes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, New York (1988); Watson et al., "Recombinant DNA", Scientific American Books, New York; Birren et al. (eds) "Genome Analysis: A Laboratory Manual Series", Vols. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1998); metodologías como se establece en las Patentes de EE.UU. Nos. 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659 y 5,272,057; "Cell Biology: A Laboratory Handbook", Volumes I-III Cellis, J. E., ed. (1994); "Culture of Animal Cells - A Manual of Basic Technique" by Freshney, Wiley-Liss, N. Y. (1994), Third Edition; "Current Protocols in Immunology" Volumes I-III Coligan J. E., ed. (1994); Stites et al. (eds), "Basic y Clinical Immunology" (8th Edition), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell and Shiigi (eds), "Selected Methods in Cellular Immunology", W. H. Freeman and Co., New York (1980); los inmunoensayos disponibles se describen ampliamente en la literatura científica y de patentes, véase, por ejemplo, Patentes de EE.UU. Nos. 3,791,932; 3,839,153; 3,850,752; 3,850,578; 3,853,987; 3,867,517; 3,879,262; 3,901,654; 3,935,074; 3,984,533; 3,996,345; 4,034,074; 4,098,876; 4,879,219; 5,011,771 y 5,281,521; "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. J., ed. (1984); "Nucleic Acid Hybridization"

Hames, B. D., and Higgins S. J., eds. (1985); "Transcription and Translation"
Hames, B. D., and Higgins S. J., eds. (1984); "Animal Cell Culture" Freshney, R.
I., ed. (1986); "Immobilized Cells and Enzymes" IRL Press, (1986); "A Practical
Guide to Molecular Cloning" Perbal, B., (1984) y "Methods in Enzymology" Vol.
5 1-317, Academic Press; "PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications",
Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak et al., "Strategies for Protein
Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual" CSHL Press
(1996); todas las cuales se incorporan por referencia como si se estableciera
completamente en la presente memoria. Se proporcionan otras referencias
10 generales a lo largo de este documento. Se considera que los procedimientos en
este son bien conocidos en la técnica y se proporcionan para comodidad del
lector. Toda la información contenida en este se incorpora en la presente
memoria como referencia.

Ejemplo 1

15 Métodos:

La dexametasona es un medicamento corticosteroide que induce la
apoptosis de las células inmunitarias y los tejidos linfomieloides. Se utilizaron
ratones BALB/c para examinar la capacidad de los péptidos candidatos para
rescatar células de linfocitos de la apoptosis. Se inyectaron ratones IP con 100
20 µg de dexametasona. Los ratones tratados con dexametasona recibieron
inmediatamente después y 24 horas después del tratamiento con dexametasona
una inyección IV de péptidos candidatos (200 µg de péptido/ratón). Los ratones

se sacrificaron 48 horas después del primer tratamiento. Se pesaron el bazo y el timo y se realizó un recuento celular completo de ambos órganos.

Los péptidos utilizados en el cribado fueron las SEQ ID NOs: 1-13. El péptido de la SEQ ID NO: 42 se utilizó como control positivo. Los péptidos establecidos en las SEQ ID NOs: 35-41 se utilizaron como controles negativos.

Resultados:

Los resultados se resumen en la Tabla 3 y la Tabla 4

Tabla 3

SEQ ID NO:	Nor mal	DEX A	42	13	11	12	3	4	8	9	10	1	2	6	7	5
Peso de bazo	100 %	62 %	79 %	82 %	81 %	89 %	85 %	77 %	76 %	76 %	84 %	89 %	89 %	80 %	84 %	81 %
Número de células de bazo	100 %	59 %	78 %	84 %	91 %	85 %	79 %	82 %	82 %	82 %	85 %	82 %	85 %	80 %	82 %	91 %
Peso de timo	100 %	44 %	47 %	49 %	52 %	63 %	60 %	55 %	53 %	55 %	56 %	59 %	61 %	48 %	72 %	52 %
Número de células de timo	100 %	23 %	34 %	44 %	49 %	51 %	33 %	31 %	30 %	31 %	33 %	28 %	25 %	23 %	29 %	49 %
Promedio	100 %	47 %	59 %	65 %	68 %	72 %	64 %	61 %	60 %	61 %	65 %	65 %	65 %	58 %	67 %	68 %

10

Tabla 4

SEQ ID NO:	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 38
Peso de bazo	69 %	69 %	62 %	64 %	72 %	69 %	67 %

Número de células de bazo	77 %	73 %	65 %	69 %	72 %	61 %	66 %
Peso de timo	48 %	50 %	42 %	43 %	41 %	49 %	50 %
Número de células de timo	24 %	27 %	39 %	40 %	34 %	25 %	24 %
Promedio	55 %	55 %	52 %	54 %	55 %	51 %	52 %

La dexametasona indujo la pérdida de peso del bazo y el timo y una reducción del recuento de células esplénicas de aproximadamente un 50 %. El recuento de células del timo se redujo en casi un 60 % en comparación con los ratones normales.

Todos los péptidos en la Tabla 3 mostraron una mejora significativa sobre la SEQ ID NO: 42. Todos los péptidos en la Tabla 4 tuvieron un efecto reducido en comparación con la SEQ ID NO: 42.

Aunque la invención se ha descrito junto con realizaciones específicas de la misma, es evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones serán aparentes para aquellos expertos en la técnica. De acuerdo con lo anterior, se pretende abarcar todas dichas alternativas, modificaciones y variaciones que caen dentro del espíritu y alcance amplio de las reivindicaciones adjuntas.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes mencionadas en esta memoria descriptiva se incorporan en la presente memoria en su totalidad por referencia en la memoria descriptiva, en la misma medida que si cada publicación, patente o solicitud de patente individual se indicara específica
5 e individualmente para incorporarse en la presente memoria por referencia. Además, la cita o identificación de cualquier referencia en la presente solicitud no se interpretará como una admisión de que dicha referencia está disponible como técnica anterior a la presente invención. En la medida en que se utilicen encabezados de sección, no se deben interpretar como necesariamente
10 limitantes.

Además, el documento de prioridad de la presente solicitud se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.