

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 495**

51 Int. Cl.:

A61K 38/01 (2006.01)

A61K 38/03 (2006.01)

A61K 38/04 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09753693 .2**

96 Fecha de presentación: **02.06.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2224941**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.09.2010**

54 Título: **Utilización de inhibidores de péptidos con permeabilidad celular de la vía de transducción de señales de JNK para el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias, crónicas o no crónicas**

30 Prioridad:
30.05.2008 WO PCT/EP2008/004340

45 Fecha de publicación de la mención BOPÍ:
21.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.06.2012

73 Titular/es:
Xigen S.A.
Route de la Corniche 4
1066 Epalinges, CH

72 Inventor/es:
BONNY, Christophe

74 Agente/Representante:
Aznárez Urbieto, Pablo

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 383 495 T3

DESCRIPCIÓN

Utilización de inhibidores de péptidos con permeabilidad celular de la vía de transducción de señales de JNK para el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias, crónicas o no crónicas

5 La presente invención se refiere al uso de inhibidores de la proteína-quinasa y más específicamente al uso de inhibidores de la proteína quinasa c-Jun amino terminal, secuencias inhibitoras de JNK, péptidos quiméricos, así como de composiciones farmacéuticas que los contienen, para el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias, crónicas o no crónicas, tales como colitis, incluyendo por ejemplo colitis ulcerosa, colitis de Crohn, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica y colitis atípica, etc.

10 Durante las últimas décadas ha aumentado significativamente la cantidad de enfermedades digestivas, en particular de enfermedades digestivas crónicas y no crónicas, en las civilizaciones occidentales, lo que representa un desafío considerable para su sistema de asistencia sanitaria pública. Las enfermedades digestivas son enfermedades pertenecientes al tracto gastrointestinal. Esto incluye enfermedades del esófago, del estómago, de la primera, segunda, tercera y cuarta parte del duodeno, del yeyuno, del íleon, del complejo ileocecal, del intestino grueso (colon ascendente, transversal y descendente), del colon sigmoideo y del recto. Las enfermedades digestivas inflamatorias crónicas se producen con frecuencia y se caracterizan por una inflamación del colon, tal como una colitis, incluyendo por ejemplo colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica, colitis colagenosa, colitis indeterminada y colitis atípica, etc. La colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn constituyen las dos principales enfermedades digestivas inflamatorias crónicas y los dos tipos principales de enfermedades intestinales inflamatorias. Tanto la enfermedad de Crohn como la colitis ulcerosa son enfermedades cuya incidencia ha aumentado rápidamente durante las últimas décadas. Por ejemplo, se estima que en Alemania entre aproximadamente un 0,01% y aproximadamente un 0,1% de la población, es decir, entre aproximadamente 10 y 100 personas de cada 100.000, padecen enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa. Además, cada año se producen entre aproximadamente 1 y aproximadamente 8 incidencias de enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, con un ritmo creciente. Las mujeres padecen la enfermedad de Crohn de forma ligeramente más frecuente, siendo la relación hombre:mujer de la colitis ulcerosa de aproximadamente 1:1. La edad de máxima aparición de colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn oscila entre los 15 y los 30 años. La segunda edad de máxima aparición oscila entre los 60 y los 80 años.

30 La colitis ulcerosa es una forma de enfermedad intestinal inflamatoria (*inflammatory bowel disease* - IBD) y, como subtipo de la colitis, una enfermedad del intestino, específicamente del intestino grueso o del colon. Los síntomas de la colitis ulcerosa incluyen típicamente úlceras características o llagas abiertas en el colon. La colitis ulcerosa comienza normalmente en el recto y se propaga continuamente por las secciones proximales del intestino grueso o del colon. El tracto gastrointestinal superior normalmente no resulta afectado. Los síntomas principales de la enfermedad activa consisten habitualmente en diarrea mezclada con sangre, de aparición gradual, y los pacientes sufren típicamente dolor abdominal espasmódico. La colitis ulcerosa se asocia a diversas manifestaciones extraintestinales (dermatológicas, reumatológicas, oculares y otras). Se trata de una enfermedad intermitente, con períodos de síntomas exacerbados y períodos relativamente exentos de síntomas. Aunque la colitis ulcerosa no tiene causa conocida, se supone que existe un componente de sensibilidad genética. Además se supone que, en una persona susceptible, la enfermedad puede desencadenarse por factores ambientales. No obstante, los síntomas de la colitis ulcerosa raras veces disminuyen por sí mismos, sino que al contrario requieren tratamiento para remitir, especialmente cuando la enfermedad pasa a un estado crónico.

45 En general, la terapia de la colitis ulcerosa depende del grado y la distribución de la enfermedad y normalmente incluye el tratamiento con fármacos antiinflamatorios, inmunosupresión y terapia biológica dirigida a componentes específicos de la respuesta inmunitaria. En estados de la enfermedad con una actividad inflamatoria menor o media (colitis distal leve y moderada), típicamente cuando la enfermedad se limita al recto, una terapia común normalmente incluye la administración de 5-aminosalicilatos, como Pentasa® o Salofalk®. Alternativamente se puede administrar una medicación local empleando supositorios o enemas. Además se pueden administrar medicaciones que contienen esteroides, incluyendo, por ejemplo, hidrocortisona, budenosida, beclometasona (Betnesol®) o prednisona (Rectodelt®), especialmente en caso de terapia aguda. En estados de la enfermedad con una actividad inflamatoria alta, típicamente cuando la colitis ulcerosa se propaga por las secciones proximales del intestino grueso o del colon, en general se administran glucocorticoides tales como beclometasona (Betnesol®) o prednisona (Rectodelt®) o derivados de los mismos, por inyección intravenosa o administración en formas rectales u orales, o se administran inmunosupresores, por ejemplo azatioprina, metotrexato (MTX) o ciclosporina A. En algunos casos se puede aplicar una terapia con anticuerpos utilizando por ejemplo anticuerpos contra TNF-alfa (INFLIXIMAB) o anti-CD4. En casos de estados de enfermedad crónica grave, que no responden a la terapia con medicación, a veces es necesaria una colorrectomía, es decir la extirpación quirúrgica parcial o total del intestino grueso, lo que, en algunos casos, se considera una cura para la enfermedad. Normalmente estas terapias disminuyen los síntomas de ataque agudo debido a colitis ulcerosa. Sin embargo, ninguna de ellas parece ofrecer una cura eficaz y duradera de esta enfermedad.

60 La enfermedad de Crohn (también conocida como enteritis regional) es otra enfermedad digestiva inflamatoria crónica importante. Se trata de un subtipo de enfermedad intestinal inflamatoria (*inflammatory bowel disease* - IBD) episódica crónica que afecta a toda la pared intestinal. A diferencia de la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn puede afectar a

cualquier parte del tracto gastrointestinal completo y, en consecuencia, los síntomas de la enfermedad de Crohn varían entre los individuos que la padecen. La enfermedad se caracteriza por áreas de inflamación con zonas de pared normal entre ellas en un síntoma conocido como lesiones "intermitentes". Los síntomas gastrointestinales principales consisten en dolor abdominal, diarrea, estreñimiento, vómitos y pérdida o aumento de peso. La enfermedad de Crohn también puede causar complicaciones fuera del tracto gastrointestinal tales como erupciones cutáneas, artritis e inflamación ocular. La enfermedad de Crohn afecta a entre 400.000 y 600.000 personas en Norteamérica (Loftus, E. V.; P. Schoenfeld, W. J. Sandborn (enero de 2002), "The epidemiology and natural history of Crohn's disease in population-based patient cohorts from North America: a systematic review", *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 16 (1): 51-60.). Las estimaciones de prevalencia en el norte de Europa oscilan entre 27 y 48 por cada 100.000 (Bernstein, Charles N. (julio de 2006), "The Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease in Canada: A Population-Based Study", *The American journal of Gastroenterology* 101 (7): 1559-1568). Además, la enfermedad de Crohn tiende a aparecer inicialmente entre los 10 y los 30 años de edad, con otro pico de incidencia en las edades entre 50 y 80 años, aunque la enfermedad se puede producir a cualquier edad (Hanauer, Stephen B. (marzo de 1996), "Inflammatory bowel disease", *New England Journal of Medicine* 334 (13): 841-848; Gopal, Latha; Senthil Nachimuthu (2006-05-23), *Chrohns Disease, eMedicine*). La causa de la enfermedad de Crohn es desconocida, no obstante se cree que se trata de una enfermedad autoinmune de relación genética. El mayor riesgo relativo tiene lugar en hermanos, afectando con una frecuencia ligeramente mayor a las mujeres. Los fumadores tienen tres veces más probabilidades de padecer la enfermedad de Crohn. Para hacer remitir la enfermedad y mantener esta remisión se utiliza una serie de tratamientos médicos. Estos tratamientos médicos incluyen, entre otros, formulaciones de ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) (cápsulas de Pentasa®, pastillas de Asacol, pastillas de Lialda, enemas de retención Rowasa), medicaciones de esteroides, la administración de inmunomoduladores (por ejemplo azatioprina, mercaptopurina (6-MP) y metotrexato) y nuevas medicaciones biológicas, tales como anticuerpos anti-TNA-alfa (por ejemplo INFLIXIMAB® y ADALIMUMAB®). De modo similar al arriba descrito en relación con la colitis ulcerosa, en general estas terapias disminuyen los síntomas de un ataque agudo por la enfermedad de Crohn. Sin embargo, ninguna de ellas parece posibilitar una cura eficaz y duradera de la enfermedad de Crohn (a excepción del anti-TNF-alfa, pero éste muestra un riesgo elevado de efectos secundarios).

Otras formas de colitis incluyen, por ejemplo, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica, colitis colagenosa, colitis indeterminada y colitis atípica, etc. Sin embargo, no existe ninguna cura eficaz y duradera sin riesgo de efectos secundarios para ninguna de estas enfermedades. Por consiguiente, en la técnica existe una necesidad urgente de medicamentos alternativos o mejorados que posibiliten terapias nuevas, y preferentemente mejoradas, para las enfermedades arriba indicadas.

Así, el objeto de la presente invención es proporcionar terapias alternativas o mejoradas que posibiliten una cura nueva y preferentemente mejorada de enfermedades digestivas (inflamatorias) crónicas o no crónicas tales como colitis, incluyendo por ejemplo colitis ulcerosa, colitis de Crohn, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica y colitis atípica, etc.

Este objeto se resuelve mediante la utilización de una secuencia inhibidora de JNK tal como se define en la reivindicación 1 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas en un sujeto.

Tal como se utiliza aquí, el concepto "enfermedad digestiva inflamatoria crónica o no crónica" significa típicamente enfermedades inflamatorias crónicas o no crónicas pertenecientes al tracto gastrointestinal. Esto incluye enfermedades del esófago, el estómago, la primera, segunda, tercera y cuarta parte del duodeno, el yeyuno, el íleon, el complejo ileocecal, el intestino grueso (colon ascendente, transversal y descendente), el colon sigmoideo y el recto. En este contexto están incluidas preferentemente enfermedades digestivas inflamatorias crónicas, que se caracterizan por una inflamación del colon tal como colitis, incluyendo por ejemplo colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica, colitis colagenosa, colitis indeterminada y colitis atípica, etc.

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que estas secuencias inhibidoras de JNK son adecuadas para tratar dichas enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas en un sujeto. Esto no era obvio ni el estado anterior de la técnica lo sugería, aunque de la técnica se conocen en general secuencias inhibidoras de JNK.

JNK es la abreviatura de "quinasa c-Jun amino terminal", un miembro del grupo activado por estrés de las proteína-quinazas activadas por mitógeno (MAP). Estas quinazas se han relacionado con el control del crecimiento y la diferenciación celular y, más generalmente, con las respuestas celulares a estímulos ambientales. La vía de transducción de las señales de JNK se activa en respuesta al estrés ambiental y mediante la intervención de diversas clases de receptores de la superficie celular. Estos receptores de la superficie celular pueden incluir receptores de citoquina, receptores de serpentina y tirosina-quinazas receptoras. En células de mamíferos, la JNK se ha relacionado con procesos biológicos tales como la transformación oncogénica y la mediación de respuestas de adaptación al estrés ambiental. La JNK también se ha asociado a la modulación de las respuestas inmunitarias, incluyendo la maduración y diferenciación de inmunocitos, y con la ejecución de la muerte celular programada en células identificadas para la destrucción por el sistema inmunológico. Esta propiedad única hacía que las señales de JNK fueran un objetivo prometedor para el desarrollo de una intervención farmacológica. Sin embargo, hasta la fecha sólo se ha demostrado un efecto farmacológico de las secuencias inhibidoras de JNK para una cantidad limitada de enfermedades, incluyendo varios trastornos neurológicos tales como ataques isquémicos y la enfermedad de Parkinson, pudiendo incluir estas

secuencias inhibitoras de JNK inhibidores de quinasa aguas arriba (por ejemplo CEP-1347), inhibidores químicos pequeños de JNK (SP600125 y AS601245) que afectan directamente a la actividad quinasa, por ejemplo compitiendo con el sitio de unión de ATP de la proteína-quinasa, e inhibidores peptídicos de la interacción entre JNK y sus sustratos (D-JNK1 e I-JIP) (véase, por ejemplo, Kuan y col., *Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders*, febrero de 2005, vol. 4, n° 1, pp. 63-67(5)). En este contexto, el inhibidor de quinasa aguas arriba CEP-1347 (KT7515) es un inhibidor semisintético de la familia de las quinasas de linaje mixto. El CEP-1347 (KT7515) promueve la supervivencia neuronal en dosis que inhiben la activación de las quinasas c-Jun amino terminales (JNK) en cultivos embrionarios primarios y células PC12 diferenciadas después de retirada trófica y en ratones tratados con 1-metil-4-feniltetrahidropiridina. Además se ha observado que el CEP-1347 (KT7515) promueve la supervivencia a largo plazo de neuronas cultivadas simpáticas, ciliares y motoras del ganglio de la raíz dorsal embrional de pollo (véase, por ejemplo, Borasio y col., *Neuroreport*. 9(7): 1435-1439, 11 de mayo de 1998). Se ha comprobado que el inhibidor químico pequeño de JNK SP600125 reduce los niveles de fosforilación de c-Jun protegiendo a las neuronas dopaminérgicas frente a la apoptosis y restaura en parte el nivel de dopamina en caso de enfermedad de Parkinson inducida por MPTP en ratones C57BL/6N (Wang y col., *Neurosci Res*. Febrero de 2004; 48(2): 195-202). Estos resultados indicaban que la vía de JNK es la principal mediadora de los efectos neurotóxicos del MPTP *in vivo* y que la inhibición de la actividad de JNK puede constituir una estrategia nueva y eficaz para tratar la enfermedad de Parkinson. Otro ejemplo de inhibidores químicos pequeños es el inhibidor de JNK AS601245 arriba mencionado. El AS601245 inhibe la vía de señales de JNK y promueve la supervivencia celular después de una isquemia cerebral. El AS601245 ha proporcionado *in vivo* una protección significativa contra la pérdida retrasada de neuronas CA1 del hipocampo en un modelo de jerbo de isquemia global transitoria. Este efecto está mediado por la inhibición de JNK y, por consiguiente, por la expresión y fosforilación de c-Jun (véase, por ejemplo, Carboni y col., *J Pharmacol Exp Ther*. Julio de 2004; 310(1):25-32. Epub 26 de febrero de 2004). Sin embargo, resumiendo lo arriba expuesto, los efectos farmacológicos demostrados de estas secuencias inhibitoras de JNK sólo han mostrado ser útiles para una cantidad limitada de enfermedades, en particular diversos trastornos neurológicos tales como ataques isquémicos y la enfermedad de Parkinson. Por consiguiente, resulta sorprendente que se puedan utilizar secuencias inhibitoras de JNK para el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas.

En general, la secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí se une a JNK y/o inhibe la activación de al menos un factor de transcripción activado por JNK, por ejemplo c-Jun o ATF2 (véanse, por ejemplo, las SEQ ID N°: 15 y 16, respectivamente) o Elk1.

Del mismo modo, la secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID N°: 2.

La secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí está compuesta por D-aminoácidos.

La secuencia D retro-inversa tal como se utiliza aquí y tal como se define más arriba tiene diversas propiedades útiles. Por ejemplo, la secuencia D retro-inversa tal como se utiliza aquí entra en las células tan eficientemente como las secuencias de L-aminoácidos, mientras que la secuencia D retro-inversa tal como se utiliza aquí es más estable que las secuencias de L-aminoácidos correspondientes.

Adicionalmente, las secuencias inhibitoras de JNK tal como se utilizan aquí pueden comprender o consistir en al menos una secuencia D retro-inversa de acuerdo con la secuencia de aminoácidos que comprende el dominio de unión de JNK (JBD) de IB1 TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTD (D-IB1) (SEQ ID N°: 18). La secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí comprende la secuencia D retro-inversa de acuerdo con la secuencia de aminoácidos NH₂-DQSRPVQPFLNITTPRKPR-COOH (D-IB1(s)) [SEQ ID N°: 2].

En la Tabla 1 se presentan secuencias inhibitoras de JNK comparativas tal como se utiliza aquí y tal como se describen más arriba (SEQ ID N°: 1, 3, 4, 13-20 y 33-100). La tabla muestra el nombre de las secuencias inhibitoras de JNK tal como se utilizan aquí y también su número identificador de secuencia, su longitud y la secuencia de aminoácidos. Además, la Tabla 1 muestra secuencias y sus fórmulas genéricas, por ejemplo para las SEQ ID N°: 1, 2, 5, 6, 9 y 11 y las SEQ ID N°: 3, 4, 7, 8, 10 y 12, respectivamente. La Tabla 1 también presenta las secuencias químicas SEQ ID N°: 9-12 y 23-32 (véase más abajo), las secuencias de L-IB1 SEQ ID N°: 33 a 66 y las secuencias de D-IB1 SEQ ID N°: 67 a 100.

Tabla 1

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
L-IB1(s)	1	19	RPKRPTTLNLFPOVPRSQD (NH₂-RPKRPTTLNLFPOVPRSQD-COOH)

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
D-IB1(s)	2	19	DQSRPVQPFNLTTPRKPR (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTPRKPR-COOH)
L-IB (genérico) (s)	3	19	NH ₂ -X _n ^b -X _n ^a -RPTTLXLXXXXXXXXXD-X _n ^b -COOH
D-IB (genérico) (s)	4	19	NH ₂ -X _n ^b -DQXXXXXXXXLXLTPR-X _n ^a -X _n ^b -COOH
L-TAT	5	10	GRKKRRQRRR (NH ₂ -GRKKRRQRRR-COOH)
D-TAT	6	10	RRRQRRKKRG (NH ₂ -RRRQRRKKRG-COOH)
L-genérico-TAT (s)	7	11	NH ₂ -X _n ^b -RKKRRQRRR-X _n ^b -COOH
D-genérico-TAT (s)	8	11	NH ₂ -X _n ^b -RRRQRRKKR-X _n ^b -COOH
L-TAT-IB1 (s)	9	31	GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB (genérico) (s)	10	29	NH ₂ -X _n ^b -RKKRRQRRR-X _n ^b -X _n ^a -RPTTLXLXXXXXXXXXD-X _n ^b -COOH
D-TAT-IB1 (s)	11	31	DQSRPVQPFNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB (genérico) (s)	12	29	NH ₂ -X _n ^b -DQXXXXXXXXLXLTPR-X _n ^a -X _n ^b -RRRQRRKKR-X _n ^b -COOH
IB1-largo	13	29	PGTGCGDTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT (NH ₂ - PGTGCGDTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT -COOH)
IB2-largo	14	27	IPSPSVEEPHKHRPTTLRLTLGAQDS (NH ₂ - IPSPSVEEPHKHRPTTLRLTLGAQDS -COOH)
c-Jun	15	29	GAYGYSNPILKQSMTLNLADPVGNLKPH (NH ₂ - GAYGYSNPILKQSMTLNLADPVGNLKPH -COOH)
ATF2	16	29	TNEDHLAVHKHKHEMTLKFGRNDSVIV (NH ₂ - TNEDHLAVHKHKHEMTLKFGRNDSVIV -COOH)
L-IB1	17	23	DTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT (NH ₂ - DTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT -COOH)
D-IB1	18	23	TDQSRPVQPFNLTTPRKPRYTD (NH ₂ - TDQSRPVQPFNLTTPRKPRYTD -COOH)
L-IB (genérico)	19	19	XRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX (NH ₂ - XRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX -COOH)
D-IB (genérico)	20	19	XS/TDQXXXXXXXXLXLTPRX (NH ₂ - XS/TDQXXXXXXXXLXLTPRX -COOH)
L-genérico-TAT	21	17	XXXXRKKRRQRRRXXX (NH ₂ - XXXXRKKRRQRRRXXX -COOH)
D-genérico-TAT	22	17	XXXXRRRQRRKKRXXX (NH ₂ - XXXXRRRQRRKKRXXX -COOH)

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
L-TAT-IB1	23	35	GRKKRRQRRRPPDTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT (NH ₂ -GRKKRRQRRRPPDTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT-COOH)
L-TAT-IB (genérico)	24	42	XXXXXXXXRKRRQRRRXXXXXXXXRPTTLXLLLLXXXXXQDS/TX (NH ₂ -XXXXXXXXRKRRQRRRXXXXXXXXRPTTLXLLLLXXXXXQDS/TX COOH)
D-TAT-IB1	25	35	TDQSRPVQPFNLTTPRKPRYTDPPRRRQRRKKRG (NH ₂ -TDQSRPVQPFNLTTPRKPRYTDPPRRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB (genérico)	26	42	XT/SDQXXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKKRXXXXXXXX (NH ₂ -XT/SDQXXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKKRXXXXXXXX COOH)
L-TAT-IB1 (s1)	27	30	RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB1 (s2)	28	30	GRKKRRQRRR _n RPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -GRKKRRQRRR _n RPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB1 (s3)	29	29	RKKRRQRRR _n RPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -RKKRRQRRR _n RPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
D-TAT-IB1 (s1)	30	30	DQSRPVQPFNLTTPRKPRPPRRRQRRKKR (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTPRKPRPPRRRQRRKKR-COOH)
D-TAT-IB1 (s2)	31	30	DQSRPVQPFNLTTPRKPR _n RRRQRRKKRG (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTPRKPR _n RRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB1 (s3)	32	29	DQSRPVQPFNLTTPRKPR _n RRRQRRKKR (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTPRKPR _n RRRQRRKKR-COOH)
L-IB1 (s1)	33	13	TLNLFQVPRSQD (NH ₂ -TLNLFQVPRSQD-COOH)
L-IB1 (s2)	34	13	TTNLFQVPRSQ (NH ₂ -TTNLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1 (s3)	35	13	PTTLNLFQVPRS (NH ₂ -PTTLNLFQVPRS-COOH)
L-IB1 (s4)	36	13	RPTTLNLFQVPR (NH ₂ -RPTTLNLFQVPR-COOH)
L-IB1 (s5)	37	13	KRPTTLNLFQVP (NH ₂ -KRPTTLNLFQVP-COOH)
L-IB1 (s6)	38	13	PKRPTTLNLFQV (NH ₂ -PKRPTTLNLFQV-COOH)
L-IB1 (s7)	39	13	RPKRPTTLNLFQ (NH ₂ -RPKRPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1 (s8)	40	12	LNLFQVPRSQJ (NH ₂ -LNLFQVPRSQD-COOH)

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
L-IB1 (s9)	41	12	TLNLFQVPRSQ (NH ₂ -TLNLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1 (s10)	42	12	TTLNLFQVPRS (NH ₂ -TTLNLFQVPRS-COOH)
L-IB1 (s11)	43	12	PTTLNLFQVPR (NH ₂ -PTTLNLFQVPR-COOH)
L-IB1 (s12)	44	12	RPTTLNLFQVP (NH ₂ -RPTTLNLFQVP-COOH)
L-IB1 (s13)	45	12	KRPTTLNLFQV (NH ₂ -KRPTTLNLFQV-COOH)
L-IB1 (s14)	46	12	PKRPTTLNLFQ (NH ₂ -PKRPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1 (s15)	47	12	RPKRPTTLNLF (NH ₂ -RPKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1 (s16)	48	11	NLFQVPRSQD (NH ₂ -NLFQVPRSQD-COOH)
L-IB1 (s17)	49	11	LNLFQVPRSQ (NH ₂ -LNLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1 (s18)	50	11	TLNLFQVPRS (NH ₂ -TLNLFQVPRS-COOH)
L-IB1 (s19)	51	11	TTLNLFQVPR (NH ₂ -TTLNLFQVPR-COOH)
L-IB1 (s20)	52	11	PTTLNLFQVP (NH ₂ -PTTLNLFQVP-COOH)
L-IB1 (s21)	53	11	RPTTLNLFQV (NH ₂ -RPTTLNLFQV-COOH)
L-IB1 (s22)	54	11	KRPTTLNLFQ (NH ₂ -KRPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1 (s23)	55	11	PKRPTTLNLF (NH ₂ -PKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1 (s24)	56	11	RPKRPTTLNLF (NH ₂ -RPKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1 (s25)	57	10	LFPQVPRSQD (NH ₂ -LFPQVPRSQD-COOH)
L-IB1 (s26)	58	10	NLFQVPRSQ (NH ₂ -NLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1 (s27)	59	10	LNLFQVPRS (NH ₂ -LNLFQVPRS-COOH)

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
L-IB1 (s28)	60	10	TLNLFQVPR (NH ₂ -TLNLFQVPR-COOH)
L-IB1 (s29)	61	10	TTLNLFQVP (NH ₂ -TTLNLFQVP-COOH)
L-IB1 (s30)	62	10	PTTLNLFQV (NH ₂ -PTTLNLFQV-COOH)
L-IB1 (s31)	63	10	RPTTLNLFQ (NH ₂ -RPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1 (s32)	64	10	KRPTTLNLF (NH ₂ -KRPTTLNLF-COOH)
L-IB1 (s33)	65	10	PKRPTTLNLF (NH ₂ -PKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1 (s34)	66	10	RPKRPTTLNL (NH ₂ -RPKRPTTLNL-COOH)
D-IB1 (s1)	67	13	QPFLNLTTPRKPR (NH ₂ -QPFLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1 (s2)	68	13	VQPFLNLTTPRK (NH ₂ -VQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1 (s3)	69	13	PVQPFLNLTTPRK (NH ₂ -PVQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1 (s4)	70	13	RPVQPFLNLTTPR (NH ₂ -RPVQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1 (s5)	71	13	SRPVQPFLNLTTP (NH ₂ -SRPVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1 (s6)	72	13	QSRPVQPFLNLT (NH ₂ -QSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s7)	73	13	DQSRPVQPFLNLT (NH ₂ -DQSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s8)	74	12	PFLNLTTPRKPR (NH ₂ -PFLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1 (s9)	75	12	QPFLNLTTPRK (NH ₂ -QPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1 (s10)	76	12	VQPFLNLTTPRK (NH ₂ -VQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1 (s11)	77	12	PVQPFLNLTTPR (NH ₂ -PVQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1 (s12)	78	12	RPVQPFLNLTTP (NH ₂ -RPVQPFLNLTTP-COOH)

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
D-IB1 (s13)	79	12	SRPVQPFLNLT (NH ₂ -SRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s14)	80	12	QSRPVQPFLNLT (NH ₂ -QSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s15)	81	12	DQSRPVQPFLNL (NH ₂ -DQSRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1 (s16)	82	11	FLNLTTPRKPR (NH ₂ -FLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1 (s17)	83	11	PFLNLTTPRK (NH ₂ -PFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1 (s18)	84	11	QPFLNLTTPRK (NH ₂ -QPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1 (s19)	85	11	VQPFLNLTTPR (NH ₂ -VQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1 (s20)	86	11	PVQPFLNLTTP (NH ₂ -PVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1 (s21)	87	11	RPVQPFLNLT (NH ₂ -RPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s22)	88	11	SRPVQPFLNLT (NH ₂ -SRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s23)	89	11	QSRPVQPFLNL (NH ₂ -QSRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1 (s24)	90	11	DQSRPVQPFLN (NH ₂ -DQSRPVQPFLN-COOH)
D-IB1 (s25)	91	10	DQSRPVQPFL (NH ₂ -DQSRPVQPFL-COOH)
D-IB1 (s26)	92	10	QSRPVQPFLN (NH ₂ -QSRPVQPFLN-COOH)
D-IB1 (s27)	93	10	SRPVQPFLNL (NH ₂ -SRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1 (s28)	94	10	RPVQPFLNLT (NH ₂ -RPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s29)	95	10	PVQPFLNLT (NH ₂ -PVQPFLNLT-COOH)
D-IB1 (s30)	96	10	VQPFLNLTTP (NH ₂ -VQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1 (s31)	97	10	QPFLNLTTPR (NH ₂ -QPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1 (s32)	98	10	PFLNLTTPRK (NH ₂ -PFLNLTTPRK-COOH)

NOMBRE DE PÉPTIDO/ SECUENCIA	SEQ ID N°	AA	SECUENCIA
D-IB1 (s33)	99	10	FLNLTPRKPR (NH ₂ -FLNLTPRKPR-COOH)
D-IB1 (s34)	100	10	LNLTPRKPR (NH ₂ -LNLTPRKPR-COOH)

Las secuencias inhibidoras de JNK tal como se utilizan aquí pueden consistir además en un derivado de secuencias de aminoácidos (no nativos) de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 tal como se define más arriba. En este contexto, un “derivado de una secuencia de aminoácidos (no nativos) de acuerdo con la SEQ ID N°: 2” consiste preferentemente en una

secuencia de aminoácidos derivada de la SEQ ID N°: 2, incluyendo el derivado al menos un D-aminoácido (que forma

aminoácido(s) no natural(es)), preferentemente de 1 a 20, de forma especialmente preferente de 1 a 10 y de forma

particularmente preferente de 1 a 5 D-aminoácidos modificados.

A este respecto, un “aminoácido modificado” puede ser cualquier aminoácido que está alterado, por ejemplo por una glicosilación diferente en diversos organismos, por fosforilación o por marcado de aminoácidos específicos. En este caso, el marcador se selecciona típicamente de entre el grupo de marcadores que incluye:

- i) marcadores radiactivos, es decir, fosforilación radiactiva o un marcador radiactivo con azufre, hidrógeno, carbono, nitrógeno, etc.;
- ii) tintes colorantes (por ejemplo digoxigenina, etc.);
- iii) grupos fluorescentes (por ejemplo fluoresceína, etc.);
- iv) grupos quimioluminiscentes;
- v) grupos para la inmovilización en fase sólida (por ejemplo His-tag, biotina, strep-tag, flag-tag, anticuerpos, antígeno, etc.); y
- vi) combinaciones de dos o más de los marcadores mencionados en los puntos (i) a (v).

Las secuencias inhibidoras de JNK tal como se utilizan de acuerdo con la presente invención y tal como se definen más arriba se pueden obtener o producir mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo mediante síntesis química tal como se describe más abajo. Por ejemplo, un péptido correspondiente a una porción de una secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí que incluye una región deseada de dicha secuencia inhibidora de JNK, o que media en la actividad deseada *in vitro* o *in vivo*, se puede sintetizar mediante el uso de un sintetizador peptídico.

Una secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí y tal como se define más arriba se puede modificar además con una secuencia de tráfico que posibilita un tráfico eficaz de la secuencia inhibidora de JNK tal como se utiliza aquí y tal como se define más arriba hasta el interior de las células. Preferentemente, estas secuencias inhibidoras de JNK modificadas se proporcionan y utilizan en forma de secuencias quiméricas.

Por consiguiente, de acuerdo con un segundo aspecto, la presente invención proporciona el uso de un péptido quimérico que consiste en un primer dominio y un segundo dominio, para preparar una composición farmacéutica para tratar enfermedades digestivas inflamatorias crónicas y no crónicas en un sujeto, comprendiendo el primer dominio del péptido quimérico una secuencia de tráfico, mientras que el segundo dominio del péptido quimérico consiste en una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2, y estando unido el primer dominio al extremo C-terminal del segundo dominio.

En general, los péptidos quiméricos utilizados de acuerdo con la presente invención tienen una longitud de al menos 24 residuos aminoácidos, por ejemplo de 25 a 250, preferentemente de 25 a 200, de forma especialmente preferente de 25 a 150, con particular preferencia de 25 a 100 y de forma totalmente preferente de 25 a 50 residuos aminoácidos.

Preferentemente, el péptido quimérico tal como se utiliza aquí comprende, como primer dominio, una secuencia de tráfico, que consiste típicamente en cualquier secuencia de aminoácidos que dirija un péptido (en el que dicha secuencia está presente) a un destino celular deseado. Por consiguiente, la secuencia de tráfico, tal como se utiliza aquí, dirige típicamente el péptido a través de la membrana plasmática, por ejemplo desde el exterior de la célula a través de la membrana plasmática hasta el interior del citoplasma. Alternativa o adicionalmente, la secuencia de tráfico puede dirigir el péptido a un lugar deseado dentro de la célula, por ejemplo el núcleo, el ribosoma, el retículo endoplásmico (RE), un lisosoma o peroxisoma, por ejemplo combinando dos componentes (por ejemplo un componente para la permeabilidad celular y un componente para la localización del núcleo) o mediante un único componente que tenga por ejemplo las propiedades de transporte a través de la membrana celular y de transporte dirigido, por ejemplo intracelular. La secuencia de tráfico puede comprender adicionalmente otro componente que se pueda unir a un

componente citoplásmico o a cualquier otro componente o compartimento de la célula (por ejemplo retículo endoplásmico, mitocondria, aparato de *gloom*, vesículas lisosomales). Por consiguiente, por ejemplo la secuencia de tráfico del primer dominio y la secuencia inhibidora de JNK del segundo dominio se pueden localizar en el citoplasma o en cualquier otro compartimento celular. Esto permite determinar la localización del péptido quimérico en la célula después de la absorción.

Preferentemente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí) tiene una longitud de 5 a 150 secuencias de aminoácido, de forma especialmente preferente una longitud de 5 a 100 y de forma totalmente preferente una longitud de 5 a 50, de 5 a 30 o incluso de 5 a 15 aminoácidos.

De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico (contenida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí) puede consistir en un tramo continuo de secuencia de aminoácidos del primer dominio. Alternativamente, la secuencia de tráfico del primer dominio se puede dividir en dos o más fragmentos, pareciéndose todos estos fragmentos a la secuencia de tráfico completa y pudiendo estar separados entre sí por 1 a 10, preferentemente 1 a 5 aminoácidos, siempre que la secuencia de tráfico como tal conserve sus propiedades de transporte arriba descritas. Estos aminoácidos que separan los fragmentos de la secuencia de tráfico se pueden seleccionar por ejemplo entre secuencias de aminoácidos diferentes a la secuencia de tráfico. Alternativamente, el primer dominio puede incluir una secuencia de tráfico compuesta por más de un componente, teniendo cada componente su propia función para el transporte de la secuencia inhibidora de JNK de carga del segundo dominio por ejemplo a un compartimento celular específico.

La secuencia de tráfico tal como se define más arriba puede estar compuesta por L-aminoácidos, D-aminoácidos o combinaciones de ambos. Preferentemente, las secuencias de tráfico (incluidas en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí) pueden comprender al menos 1 o incluso 2, preferiblemente al menos 3, 4 o 5, de forma especialmente preferente al menos 6, 7, 8 o 9 y de forma particularmente preferente al menos 10 o más D- y/o L-aminoácidos, pudiendo estar dispuestos los D- y/o L-aminoácidos en las secuencias de tráfico de JNK por bloques, no por bloques o de forma alterna.

De acuerdo con una realización alternativa, la secuencia de tráfico del péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede estar compuesta exclusivamente por L-aminoácidos. De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico del péptido quimérico tal como se utiliza aquí comprende o consiste en al menos una secuencia de tráfico "nativa" tal como se define más arriba. En este contexto, el término "nativo" se refiere a secuencias de tráfico no alteradas compuestas totalmente por L-aminoácidos.

De acuerdo con otra realización alternativa, la secuencia de tráfico del péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede estar compuesta exclusivamente por D-aminoácidos. De forma especialmente preferente, la secuencia de tráfico del péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede comprender un péptido D retro-inverso de las secuencias arriba presentadas.

La secuencia de tráfico del primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí se puede obtener de fuentes naturales o se puede producir utilizando técnicas de ingeniería genética o síntesis química (véase, por ejemplo, Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.).

Se pueden emplear fuentes para la secuencia de tráfico del primer dominio, incluyendo, por ejemplo, proteínas nativas tales como la proteína TAT (Patentes US Nº 5.804.604 y 5.674.980, documentos incorporados aquí por referencia), VP22 (descrita por ejemplo en WO 97/05265; Elliott y O'Hare, Cell 88: 223-233 (1997)), proteínas no virales (Jackson y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10691-10695 (1992)), secuencias de tráfico derivadas de Antennapedia (por ejemplo la secuencia portadora de antennapedia) o de péptidos básicos, por ejemplo péptidos con una longitud de 5 a 15 aminoácidos, preferentemente de 10 a 12 aminoácidos, y que comprenden al menos un 80%, de forma especialmente preferente un 85% o incluso un 90% de aminoácidos básicos, por ejemplo arginina, lisina y/o histidina. Además, aquí se dan a conocer variantes, fragmentos y derivados de una de las proteínas nativas utilizadas como secuencias de tráfico. Con respecto a las variantes, fragmentos y derivados, se hace referencia a la definición dada más arriba para las secuencias inhibidoras de JNK tal como se utilizan aquí. Las variantes, fragmentos y derivados se definen correspondientemente tal como se expone más arriba para las secuencias inhibidoras de JNK tal como se utilizan aquí. En particular, en el contexto de la secuencia de tráfico, una variante, fragmento o derivado se puede definir como una secuencia que comparte una identidad de secuencia de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% o incluso 99% con una de las proteínas nativas utilizadas como secuencias de tráfico tal como se definen más arriba.

En una realización preferente del péptido quimérico tal como se utiliza aquí, la secuencia de tráfico del primer dominio comprende o consiste en una secuencia derivada de la proteína TAT 1 del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), en particular algunos o todos los 86 aminoácidos que componen la proteína TAT.

Para una secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí) se pueden utilizar secuencias parciales de la proteína TAT de longitud completa que forman un fragmento funcionalmente efectivo de una proteína TAT, es decir un péptido TAT que incluye la región que media en la entrada y la absorción celular. Se

5 puede determinar utilizando técnicas conocidas si una frecuencia consiste en un fragmento funcionalmente efectivo de la proteína TAT (véase, por ejemplo, Franked y col., Proc. Natl. Acad. Sci, USA 86: 7397-7401 (1989)). Por consiguiente, la secuencia de tráfico en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí se puede derivar de un fragmento o porción funcionalmente efectivos de una secuencia de proteína TAT que comprende menos de 86 aminoácidos y que demuestra una absorción en las células y opcionalmente una absorción en el núcleo celular. De forma especialmente preferente está previsto que las secuencias parciales (fragmentos) de TAT a utilizar como vehículo para mediar en la permeabilidad del péptido quimérico a través de la membrana celular comprendan la región básica (aminoácidos 48 a 57 o 49 a 57) de la TAT de longitud completa.

10 De acuerdo con una realización especialmente preferente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí) puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos que contiene los residuos TAT 48-57 o 49 a 57, y de forma totalmente preferente una secuencia TAT genérica $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RKKRRQRRR-X}_n^b\text{-COOH}$ (L-genérico-TAT (s)) [SEQ ID N°: 7] y/o $\text{XXXXRKKRRQ RRRXXXX}$ (L-genérico-TAT) [SEQ ID N°: 21], donde X o X_n^b tienen el significado arriba definido. Además, la cantidad de residuos " X_n^b " en la SEQ ID N°: 8 no está limitada a la cantidad representada, pudiendo variar tal como se describe más arriba. Alternativamente, la
15 secuencia de tráfico incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede comprender o consistir en un péptido que contiene por ejemplo la secuencia de aminoácidos $\text{NH}_2\text{-GRKKRRQRRR-COOH}$ (L-TAT) [SEQ ID N°: 5].

20 De acuerdo con otra realización especialmente preferente, la secuencia de tráfico (incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí) puede comprender un péptido retroinverso-D de las secuencias arriba mostradas, es decir, la secuencia retroinversa-D de la secuencia TAT genérica de secuencia $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RRRQRRKKR-X}_n^b\text{-COOH}$ (D-genérico-TAT (s)) [SEQ ID N°: 8] y/o XXXXRRRQRRKKRXXXX (D-genérico-TAT) [SEQ ID N°: 22]. También en este caso X_n^b tiene el significado arriba definido (preferentemente representa D-aminoácidos). Además, la cantidad de residuos " X_n^b " en la SEQ ID N°: 8 no está limitada a la cantidad indicada y puede variar tal como se ha descrito anteriormente. De forma totalmente preferente, la secuencia de tráfico tal como se utiliza aquí puede
25 comprender la secuencia retroinversa-D $\text{NH}_2\text{-RRRQRRKKRG-COOH}$ (D-TAT) [SEQ ID N°: 6].

De acuerdo con otra realización, la secuencia de tráfico incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí puede comprender o consistir en variantes de las secuencias de tráfico arriba definidas. Una "variante de una secuencia de tráfico" consiste preferentemente en una secuencia derivada de una secuencia de tráfico tal como se ha definido, comprendiendo la variante una modificación, por ejemplo por adición, delección (interna) (que conduce a fragmentos) y/o sustitución de al menos un aminoácido presente en la secuencia de tráfico definida. En general, esta o estas modificaciones comprenden de 1 a 20, preferentemente de 1 a 10 y de forma especialmente preferente de 1 a 5 sustituciones, adiciones y/o delecciones de aminoácidos. Además, la variante presenta preferentemente una identidad de secuencia preferentemente con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 o 21-22 de al menos aproximadamente un 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% o incluso 99% con la secuencia de tráfico tal como se ha definido más arriba.

35 Preferentemente, tal modificación de la secuencia de tráfico incluida en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí conduce a una secuencia de tráfico que presenta una estabilidad aumentada o reducida. Alternativamente se pueden diseñar variantes de la secuencia de tráfico para modular la localización intracelular del péptido quimérico tal como se utiliza aquí. Cuando se añaden de forma exógena, estas variantes arriba definidas se diseñan típicamente de modo que conservan la capacidad de la secuencia de tráfico de penetrar en las células (es decir, la absorción de la variante de la secuencia de tráfico en la célula es esencialmente similar a la de la proteína nativa utilizada como secuencia de tráfico). Por ejemplo, la alteración de la región básica considerada importante para la localización nuclear (véase, por ejemplo, Dang y Lee, J. Biol. Chem. 264: 18019-18023 (1989); Hauber y col., J. Virol. 63: 1181-1187 (1989); y col., J. Virol. 63: 1-8 (1989)) puede conducir a una localización citoplásmica o una localización parcialmente citoplásmica de la secuencia de tráfico y, en consecuencia, de la secuencia inhibidora de JNK como componente del
40 péptido quimérico tal como se utiliza aquí. Además de lo arriba expuesto, también se pueden introducir otras modificaciones en la variante, por ejemplo uniendo por ejemplo colesterol u otras fracciones lipídicas a la secuencia de tráfico para producir una secuencia de tráfico de mayor solubilidad de membrana. Cualquiera de las variantes arriba descritas de las secuencias de tráfico incluidas en el primer dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí se puede producir utilizando técnicas generalmente conocidas por los especialistas (véase, por ejemplo, Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual. 2ª edición. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.).
50

En general, el péptido quimérico tal como se utiliza aquí comprende como segundo dominio cualquiera de las secuencias inhibidoras de JNK arriba definidas, incluyendo variantes, fragmentos y/o derivados de estas secuencias inhibidoras de JNK.

55 Los dos dominios, es decir, el primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí, están unidos de modo que forman una unidad funcional. Para unir el primer y el segundo dominio se puede emplear cualquier método bien conocido en la técnica.

De acuerdo con una realización, el primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí están unidos preferentemente por un enlace covalente. Un enlace covalente, tal como se define aquí, puede consistir por
60 ejemplo en un enlace peptídico.

No obstante, los dos dominios también pueden estar unidos mediante cadenas laterales o por una fracción de un enlazante químico.

El primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se utiliza aquí están presentes en una copia simple, el primer dominio unido al extremo C-terminal del segundo dominio.

- 5 Preferentemente, el primer y el segundo dominio pueden estar unidos directamente entre sí sin ningún enlazante. Alternativamente pueden estar unidos entre sí a través de una secuencia de enlace que incluye de 1 a 10, preferentemente de 1 a 5 aminoácidos. Los aminoácidos que forman la secuencia de enlace se seleccionan preferentemente entre glicina o prolina como residuos de aminoácido. De forma especialmente preferente, el primer y el segundo dominio pueden estar separados entre sí por una bisagra de dos, tres o más residuos prolina entre el primer y el segundo dominio.

De acuerdo con una realización específica alternativa, el péptido quimérico tal como se utiliza aquí consiste en péptidos quiméricos de D-aminoácidos de acuerdo con el péptido TAT-IB1:

NH₂-DQSRPVQPFLNLTPRKPRPPRRRQRRKKRG-COOH (DTAT-IB1(s))

[SEQ ID N°: 11].

- 15 El primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba pueden estar unidos entre sí mediante acoplamiento químico o bioquímico realizado de cualquier forma adecuada conocida en la técnica, por ejemplo estableciendo un enlace peptídico entre el primer y el segundo dominio, por ejemplo reticulando el primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba.

- 20 Muchos de los métodos conocidos adecuados para la reticulación química del primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba no son específicos, es decir no dirigen el punto de acoplamiento a ningún sitio particular del polipéptido de transporte o de la macromolécula de carga. En consecuencia, el uso de agentes reticulantes no específicos puede atacar sitios funcionales o bloquear estéricamente sitios activos, volviendo a las proteínas conjugadas biológicamente inactivas. Por consiguiente, preferentemente se utilizan métodos de reticulación que permiten un acoplamiento más específico del primer y el segundo dominio.

- 25 En este contexto, un modo de incrementar la especificidad de acoplamiento consiste en un acoplamiento químico directo con un grupo funcional presente sólo una vez o unas pocas veces en el primer o en el segundo dominio a reticular, o en ambos. Por ejemplo, la cisteína, que es el único aminoácido proteínico que contiene un grupo tiol, aparece en muchas proteínas sólo unas pocas veces. También por ejemplo, si un polipéptido no contiene ningún residuo de lisina, un reactivo de reticulación específico con respecto a aminas primarias será selectivo para el extremo amino de dicho polipéptido. La utilización con éxito de este método para aumentar la especificidad de acoplamiento requiere que el polipéptido tenga los residuos reactivos y poco frecuentes adecuados en zonas de la molécula que puedan alterarse sin que ésta pierda su actividad biológica. Los residuos de cisteína se pueden sustituir cuando están presentes en partes de una secuencia polipeptídica donde, de otro modo, su participación en una reacción de reticulación probablemente interferiría en la actividad biológica. Cuando se sustituye un residuo cisteína en general es deseable reducir al mínimo los cambios resultantes en el plegado del polipéptido. Los cambios en el plegado del polipéptido se reducen al mínimo cuando el sustitutivo es química y estéricamente similar a la cisteína. Por estas razones es preferible utilizar serina como sustitutivo de la cisteína. Tal como se demuestra en los ejemplos más abajo, en una secuencia de aminoácidos del polipéptido se puede introducir un residuo cisteína para la reticulación. Cuando se introduce un residuo cisteína, es preferible la introducción en el extremo amino o carboxilo o cerca del mismo. Son conocidos métodos convencionales para estas modificaciones de secuencias de aminoácidos en los que el polipéptido de interés se produce mediante síntesis química.

- El acoplamiento del primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba y tal como se utiliza aquí también se puede llevar a cabo mediante un agente de acoplamiento o conjugación. Son conocidos diversos reactivos de reticulación intermolecular que pueden ser utilizados (véase, por ejemplo, Means y Feeney, CHEMICAL MODIFICATION OF PROTEINS, Holden-Day, 1974, pp. 39-43). Entre estos reactivos se encuentran, por ejemplo, N-succinimidil 3-(2-pirridiltio) propionato (SPDP) o N,N'-(1,3-fenilen)bismaleimida (ambos altamente específicos con respecto a los grupos sulfhidrilo, formando enlaces irreversibles); N,N'-etilen-bis(yodoacetamida) u otro reactivo de este tipo con 6 a 11 puentes de carbono metilénico (relativamente específicos con respecto a los grupos sulfhidrilo); y 1,5-difluor-2,4-dinitrobenceno (que forma enlaces irreversibles con los grupos amino y tirosina). Otros reactivos de reticulación útiles para este fin incluyen: p,p'-difluor-m,m'-dinitrodifenilsulfona (que forma reticulaciones irreversibles con grupos amino y fenólicos); dimetil adipimidato (que es específico con respecto a los grupos amino); fenol-1,4-disulfonilcloruro (que reacciona principalmente con grupos amino); diisocianato de hexametileno o diisotiocianato, o azofenil-p-diisocianato (que reacciona principalmente con grupos amino); glutaraldehído (que reacciona con diversas cadenas laterales diferentes) y disdiazobenzidina (que reacciona principalmente con tirosina e histidina).

- 55 Los reactivos de reticulación utilizados para reticular el primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba pueden ser homobifuncionales, es decir tienen dos grupos funcionales que experimentan la misma reacción. Un reactivo de reticulación homobifuncional preferente es bismaleimidoheptano ("BMH"). El BMH contiene dos grupos funcionales de maleimida que reaccionan específicamente con compuestos que contienen sulfhidrilo bajo

condiciones suaves (pH 6,5-7,7). Los dos grupos maleimido están unidos por una cadena hidrocarburo. Por consiguiente, el BMH es útil para la reticulación irreversible de polipéptidos que contienen residuos cisteína.

Los reactivos de reticulación utilizados para reticular el primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba también pueden ser heterobifuncionales. Los agentes de reticulación heterobifuncionales tienen dos grupos funcionales diferentes, por ejemplo un grupo reactivo con amina y un grupo reactivo con tiol, que reticularán dos proteínas que tengan aminas y tioles libres, respectivamente. Como ejemplos de agentes de reticulación heterobifuncionales se mencionan: succinimidil 4-(maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato ("SMCC"), m-maleimidobenzoil-N éster de hidroxisuccinimida ("MBS"), y succinimida 4-(p-maleimidofenil)butirato ("SMPB"), un análogo de MBS de cadena prolongada. El grupo succinimidilo de estos reticulantes reacciona con una amina primaria y la maleimida reactiva con tiol forma un enlace covalente con el tiol de un residuo cisteína.

Con frecuencia, los reactivos de reticulación adecuados para reticular el primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba son poco solubles en agua. Por consiguiente, para mejorar la solubilidad en agua del reactivo de reticulación se puede añadir al mismo una fracción hidrófila, por ejemplo un grupo sulfonato. A este respecto, el sulfo-MBS y el sulfo-SMCC son ejemplos de reactivos de reticulación modificados para aumentar su solubilidad en agua que pueden ser utilizados de acuerdo con la presente invención. De forma similar, muchos reactivos reticulantes producen un conjugado que esencialmente no segmentable bajo condiciones celulares. Sin embargo, algunos reactivos de reticulación particularmente adecuados para la reticulación del primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba contienen un enlace covalente, tal como disulfuro, que es segmentable bajo condiciones celulares. Por ejemplo, el reactivo de Traut, ditiobis(succinimidilpropionato) ("DPS") y N-succinimidil 3-(2-piridilditio)propionato ("SPDP") son reticulantes divisibles bien conocidos. El uso de un reactivo de reticulación divisible permite que la fracción de carga se separe del polipéptido de transporte después de su suministro al interior de la célula diana. También puede resultar útil un enlace directo disulfuro.

Numerosos reactivos de reticulación, incluyendo los arriba descritos, son comerciales. Las instrucciones detalladas para su uso se pueden obtener fácilmente de los proveedores comerciales. Una referencia general de la reticulación de proteínas y la preparación de conjugados es: Wong, CHEMISTRY OF PROTEIN CONJUGATION AND CROSSLINKING, CRC Press (1991).

La reticulación química del primer y el segundo dominio del péptido quimérico tal como se define más arriba puede incluir el uso de brazos separadores. Los brazos separadores proporcionan flexibilidad intramolecular o ajustan la distancia intramolecular entre fracciones conjugadas, ayudando así a conservar la actividad biológica. Un brazo separador puede tener la forma de una fracción de polipéptido que incluye aminoácidos separadores, por ejemplo prolina. Alternativamente, un brazo separador puede formar parte del reactivo de reticulación, por ejemplo en un "SPDP de cadena larga" (Pierce Chem. Co., Rockford, IL., cat. No. 21651 H).

Por último, el péptido quimérico tal como se utiliza aquí también comprende derivados de los péptidos quiméricos anteriormente descritos, en particular de la secuencia peptídica quimérica según la SEQ ID N°: 11.

El péptido quimérico tal como se define aquí, al igual que los fragmentos del mismo, se pueden utilizar como inmunógenos para generar anticuerpos que se unen específicamente a dichos compuestos peptídicos. Estos anticuerpos incluyen, por ejemplo fragmentos Fab policlonales, monoclonales, quiméricos de cadena simple y una librería de expresión de Fab. Para producir estos anticuerpos se pueden utilizar diversos procedimientos conocidos en la técnica.

A modo de ejemplo, se pueden inmunizar diversos animales huésped para producir anticuerpos policlonales mediante inyección con un péptido quimérico o con una secuencia inhibidora de JNK tal como se define más arriba. Se pueden utilizar diversos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunitaria, incluyendo, de forma no exclusiva, adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales (por ejemplo hidróxido de aluminio), sustancias tensioactivas (por ejemplo lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, dinitrofenol, etc.), CpG, polímeros, plurónicos y adyuvantes humanos tal como Bacille Calmette-Guerin y *Corynebacterium parvum*.

Para preparar anticuerpos monoclonales dirigidos a un péptido quimérico o a una secuencia inhibidora de JNK tal como se define más arriba se puede utilizar cualquier técnica que permita producir moléculas de anticuerpo mediante cultivo continuo de líneas celulares. Estas técnicas incluyen, de forma no exclusiva, la técnica de hibridoma (véase Kohler y Milstein 1975. Nature 256: 495-497); la técnica de trioma; la técnica de hibridoma de células B humanas (véase Kozbor y col., 1983, Immunol Today 4: 72) y la técnica de hibridoma EBV para producir anticuerpos monoclonales humanos (véase Cole y col., 1985. En: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96). En la práctica de la presente invención se pueden utilizar anticuerpos monoclonales humanos, que se pueden producir mediante el uso de hibridomas humanos (véase Cote y col., 1983. Proc Natl Acad Sci USA 80: 2026-2030) o transformando células B humanas con virus de Epstein Barr *in vitro* (véase Cole y col., 1985. En: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy (Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96).

Se pueden adaptar técnicas para la producción de anticuerpos de cadena simple específicos con respecto a las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos (véase, por ejemplo, la Patente US N° 4.946.778) tal como se definen aquí. Además se pueden adaptar métodos para construir librerías de expresión Fab (véase, por ejemplo, Huse y

col., 1989, Science 246: 1275-1281) para posibilitar una identificación rápida y eficaz de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada con respecto a estas secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos. También es posible "humanizar" anticuerpos no humanos mediante técnicas bien conocidas (véase, por ejemplo, la Patente US 5.225.539). Se pueden producir fragmentos de anticuerpo que contienen los idiotipos para una secuencia inhibidora de JNK y/o un péptido quimérico tal como se define aquí mediante técnicas conocidas, incluyendo, por ejemplo, (i) un fragmento F(ab')₂ producido mediante digestión de pepsina de una molécula anticuerpo; (ii) un fragmento Fab generado por la reducción de los puentes de disulfuro en un fragmento F(ab')₂; (iii) un fragmento Fab generado por tratamiento de la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor; y (iv) fragmentos Fv.

Los métodos que pueden utilizarse para el "screening" de anticuerpos y que poseen la especificidad deseada incluyen, de forma no exclusiva, ensayos con sustancias inmunoabsorbentes unidas a enzimas (ELISA) y otras técnicas de mediación inmunológica conocidas. En una realización específica, la selección de anticuerpos específicos con respecto a un epítipo particular de una secuencia inhibidora de JNK y/o de un péptido quimérico tal como se define aquí (por ejemplo, en general, un fragmento del mismo que comprende una longitud de 5 a 20, preferentemente de 8 a 18 y de forma especialmente preferente de 8 a 11 aminoácidos) se facilita mediante la generación de hibridomas que se unen al fragmento de una secuencia inhibidora de JNK y/o un péptido quimérico, tal como se define aquí, que posee un epítipo de dicho tipo. Aquí también están previstos los anticuerpos que son específicos para un epítipo tal como se define más arriba.

Los anticuerpos tal como se definen aquí se pueden utilizar en métodos conocidos en la técnica referentes a la localización y/o cuantificación de una secuencia inhibidora de JNK (y/o correspondientemente a un péptido quimérico tal como se define más arriba), por ejemplo para medir los niveles del péptido dentro de muestras fisiológicas apropiadas, en métodos diagnósticos o para generar imágenes del péptido, y similares.

Las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y/o los anticuerpos tal como se definen de acuerdo con la invención se pueden formular en una composición farmacéutica que se puede emplear en la prevención o el tratamiento de cualquiera de las enfermedades aquí definidas, en particular en la prevención o el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas y no crónicas tal como se definen aquí. En general, una composición farmacéutica de este tipo utilizada de acuerdo con la presente invención incluye como componente activo por ejemplo: (i) cualquiera o cualesquiera de las secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos y/o péptidos quiméricos tal como se definen más arriba, y/o variantes, fragmentos o derivados de los mismos, en particular secuencias inhibidoras de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 y/o péptidos quiméricos de acuerdo con la SEQ ID N°: 11, y/o secuencias inhibidoras de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 que comprenden una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas tal como se definen más arriba.

De acuerdo con una realización preferente, una composición farmacéutica de este tipo tal como se utiliza de acuerdo con la presente invención incluye típicamente una cantidad segura y eficaz de un componente tal como se define más arriba, preferentemente de al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 y/o al menos un péptido quimérico de acuerdo con la SEQ ID N°: 11, y/o al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 que comprende una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas tal como se definen más arriba.

Los inventores de la presente invención han descubierto además que la secuencia inhibidora de JNK y el péptido quimérico, respectivamente, tal como se definen aquí, muestran una tasa de absorción particularmente buena en células implicadas en las enfermedades de la presente invención. Por ello, la cantidad de secuencia inhibidora de JNK y de péptido quimérico, respectivamente, en la composición farmacéutica a administrar a un sujeto puede ser de dosis muy baja, sin limitarse a ello. Por consiguiente, la dosis puede ser mucho más baja que en el caso de los fármacos peptídicos conocidos en la técnica, tal como DTS-108 (Florence Meyer-Losic y col., Clin Cancer Res., 2008, 2145-53). Esto tiene diversos aspectos positivos, por ejemplo la reducción de las reacciones secundarias potenciales y un menor gasto.

Preferentemente, la dosis (por kg de peso corporal) está en el intervalo de hasta 10 mmol/kg, preferiblemente de hasta 1 mmol/kg, de forma especialmente preferente de hasta 100 µmol/kg, de forma todavía más preferente de hasta 10 µmol/kg, en particular de hasta 1 µmol/kg, de forma particularmente preferente de hasta 100 nmol/kg y de forma totalmente preferente de hasta 50 nmol/kg.

Por consiguiente, el rango de dosis puede oscilar preferentemente entre aproximadamente 1 pmol/kg y aproximadamente 1 mmol/kg, entre aproximadamente 10 pmol/kg y aproximadamente 0,1 mmol/kg, entre aproximadamente 10 pmol/kg y aproximadamente 0,01 mmol/kg, entre aproximadamente 50 pmol/kg y aproximadamente 1 µmol/kg, entre aproximadamente 100 pmol/kg y aproximadamente 500 nmol/kg, entre aproximadamente 200 pmol/kg y aproximadamente 300 nmol/kg, entre aproximadamente 300 pmol/kg y aproximadamente 100 nmol/kg, entre aproximadamente 500 pmol/kg y aproximadamente 50 nmol/kg, entre aproximadamente 750 pmol/kg y aproximadamente 30 nmol/kg, entre aproximadamente 250 pmol/kg y aproximadamente 5 nmol/kg, entre aproximadamente 1 nmol/kg y aproximadamente 10 nmol/kg, o combinaciones de dos cualesquiera de estos valores.

En este contexto, en general, la prescripción de un tratamiento, por ejemplo decisiones sobre la dosificación, etc., cuando se utilizan las composiciones farmacéuticas arriba indicadas es responsabilidad del médico y otros clínicos, y habitualmente debe tenerse en cuenta el trastorno a tratar, el estado del paciente individual, el lugar de suministro, el método de administración y otros factores conocidos por los médicos. En REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 16 edición, Osol, A. (ed.) 1980, se pueden encontrar ejemplos de las técnicas y protocolos arriba mencionados. Por consiguiente, una "cantidad segura y eficaz" tal como se define más arriba para los componentes de las composiciones farmacéuticas tal como se utilizan de acuerdo con la presente invención significa una cantidad de cada uno de estos componentes, o de todos ellos, que es suficiente para inducir de forma significativa una modificación positiva de una enfermedad digestiva inflamatoria crónica o no crónica tal como se define aquí. No obstante, al mismo tiempo, la "cantidad segura y eficaz" es lo suficientemente pequeña como para evitar efectos secundarios graves, es decir, para permitir una relación razonable entre las ventajas y los riesgos. La determinación de estos límites entra típicamente dentro del ámbito de un criterio médico sensato. Una "cantidad segura y eficaz" de un componente de este tipo variará en relación con la enfermedad particular a tratar y también con la edad y el estado físico del paciente a tratar, la gravedad de la enfermedad, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia complementaria, del vehículo farmacéuticamente aceptable particular utilizado y de factores similares, dentro de los conocimientos y la experiencia del clínico en cuestión. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden utilizar de acuerdo con la invención para fines médicos y también veterinarios.

Adicionalmente, la composición farmacéutica utilizada de acuerdo con la presente invención puede comprender, además de una de dichas sustancias, un vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible), excipiente, tampón o estabilizador u otros materiales conocidos por los especialistas.

En este contexto, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible)" incluye preferentemente la base líquida o no líquida de la composición. El término "compatible" significa que los constituyentes de la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí pueden mezclarse con el componente farmacéuticamente activo tal como se define más arriba y con otro componente de tal modo que no se produce ninguna interacción que pueda reducir esencialmente la eficacia farmacéutica de la composición bajo condiciones de uso normales. Evidentemente, los vehículos farmacéuticamente aceptables deben tener una pureza lo suficientemente alta y una toxicidad lo suficientemente baja para que sean adecuados para su administración a una persona a tratar.

En general, cuando la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí se proporciona en forma líquida, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprenderá uno o más vehículos líquidos farmacéuticamente aceptables (compatibles). La composición puede comprender, como vehículos líquidos farmacéuticamente aceptables (compatibles), por ejemplo agua libre de pirógenos; soluciones (acuosas) salinas isotónicas o tamponadas, por ejemplo soluciones tamponadas con fosfato, citrato, etc.; aceites vegetales, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de teobroma; polioles, por ejemplo polipropilenglicol, glicerol, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ácido algínico, etc. También se puede emplear un tampón, preferentemente un tampón acuoso, en particular para la inyección de la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí.

En general, cuando la composición farmacéutica tal como se utiliza aquí se proporciona en forma sólida, el vehículo farmacéuticamente aceptable comprenderá uno o más vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables (compatibles). La composición puede comprender, como vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables (compatibles), por ejemplo uno o más materiales de carga o diluyentes sólidos o líquidos compatibles o también se pueden utilizar compuestos de encapsulación adecuados para su administración a una persona. Algunos de estos vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables (compatibles) son, por ejemplo, azúcares, por ejemplo lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, por ejemplo almidón o fécula de patata; celulosa y sus derivados, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa, acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; sebo; deslizantes sólidos, por ejemplo ácido esteárico, estearato de magnesio; sulfato de calcio, etc.

La naturaleza concreta del vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible) u otro material puede depender de la vía de administración. Por consiguiente, la selección de un vehículo farmacéuticamente aceptable (compatible) se puede determinar en principio de acuerdo con el modo de administración de la composición farmacéutica tal como se utiliza de acuerdo con la invención. La composición farmacéutica tal como se utiliza de acuerdo con la invención se puede administrar, por ejemplo, de forma sistémica. Las vías de administración incluyen, por ejemplo, la vía parenteral (por ejemplo inyección), tal como vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica o transdérmica, etc.; vía enteral, tal como vía oral o rectal, etc.; vía tópica, tal como vía nasal o intranasal, etc.; u otras vías, por ejemplo vía epidérmica o administración en parche.

La cantidad adecuada de la composición farmacéutica a utilizar se puede determinar mediante experimentos rutinarios con modelos animales. Estos modelos incluyen, sin que esto implique ninguna limitación, modelos en conejos, oveja, ratón, rata, perro y primate no humano. Las formas de dosificación unitaria preferentes incluyen soluciones estériles de agua, solución salina fisiológica o mezclas de éstas. El pH de estas soluciones se debería ajustar a aproximadamente 7,4. Vehículos adecuados para inyección incluyen hidrogeles, dispositivos de liberación controlada o retardada, ácido poliláctico y matrices de colágeno. Vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración tópica incluyen aquellos adecuados para ser utilizados en lociones, cremas, geles y similares. Cuando el compuesto se ha de administrar vía peroral, las formas de dosificación unitaria consisten en tabletas, cápsulas y similares. Vehículos farmacéuticamente aceptables para preparar formas de dosificación unitaria a utilizar para la administración oral son

bien conocidos en el estado actual de la técnica. La selección de los mismos dependerá de consideraciones secundarias tales como sabor, coste y capacidad de almacenamiento, que no son críticas para los objetivos de la presente invención, y puede ser realizada sin dificultad por una persona con experiencia en la técnica.

- Las composiciones farmacéuticas para la administración oral se pueden encontrar en forma de tabletas, cápsulas, polvos o líquidos. Una tableta puede incluir un vehículo sólido tal como se define más arriba, por ejemplo gelatina, y opcionalmente un adyuvante. En general, las composiciones farmacéuticas líquidas de administración oral pueden incluir un vehículo líquido tal como se define más arriba, por ejemplo agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o aceite sintético. También pueden incluir una solución salina fisiológica, dextrosa u otras soluciones de sacáridos o glicoles, tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol.
- 10 Para la inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, o local en el lugar de la dolencia, el ingrediente activo estará en forma de solución acuosa parenteralmente aceptable libre de pirógenos y con un pH, una isotonicidad y una estabilidad adecuados. Las personas con un conocimiento técnico relevante pueden preparar soluciones adecuadas utilizando, por ejemplo, vehículos isotónicos tales como Inyección de Cloruro de Sodio, Inyección de Ringer, Inyección de Ringer Lactato. También se pueden incluir conservantes, estabilizadores, tampones, antioxidantes y/u otros aditivos, según se requiera. Independientemente de que se trate de un polipéptido, péptido o molécula de ácido nucleico, u otro compuesto farmacéuticamente útil de acuerdo con la presente invención, que deba ser administrado a un individuo, la administración se lleva a cabo en una "cantidad profilácticamente eficaz" o en una "cantidad terapéuticamente eficaz" (según sea aplicable), siendo ésta suficiente para beneficiar al individuo. La cantidad exacta administrada y la velocidad y la evolución temporal de la administración dependerán de la naturaleza y de la gravedad de la enfermedad tratada.
- 20 La prevención y/o el tratamiento de una enfermedad tal como se define aquí incluye típicamente la administración de una composición farmacéutica tal como se describe más arriba. El término "modular" incluye la supresión de la expresión de JNK cuando se sobreexpresa en cualquiera de las enfermedades arriba indicadas. También incluye, de forma no exclusiva, la supresión o fosforilación de c-jun, ATF2 o NFAT4 en cualquiera de las enfermedades arriba indicadas, por ejemplo mediante el uso de al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 y/o al menos un péptido quimérico de acuerdo con la SEQ ID N°: 11, y/o al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 incluyendo una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas tal como se definen más arriba, como inhibidor competitivo del sitio de unión natural de c-jun, ATF2 y NFAT4 en una célula. El término "modular" también incluye la supresión de complejos heteroméricos y homoméricos de factores de transcripción formados, de forma no exclusiva, por c-jun, ATF2 o NFAT4 y sus compañeros relacionados, por ejemplo el complejo AP-1, que está formado por c-jun, ATF2 y c-fos. Cuando una enfermedad digestiva inflamatoria crónica o no crónica está asociada a una sobreexpresión de JNK, dichas secuencias inhibidoras de JNK supresoras se pueden introducir en una célula. En algunos casos, "modular" puede incluir el aumento de la expresión de JNK, por ejemplo empleando un anticuerpo específico de péptido IB que bloquea la unión de un péptido IB a JNK, evitando así la inhibición de JNK mediante el péptido relacionado con IB.
- 35 La prevención y/o el tratamiento de un sujeto con la composición farmacéutica tal como se describe más arriba se puede llevar a cabo típicamente administrando (*in vivo*) una cantidad ("terapéuticamente eficaz") de dicha composición farmacéutica a un sujeto, pudiendo ser este sujeto, por ejemplo, cualquier mamífero tal como humano, primate, ratón, rata, perro, gato, vaca, caballo o cerdo. El concepto "terapéuticamente eficaz" significa que la cantidad del componente activo de la composición farmacéutica es suficiente para mejorar la enfermedad digestiva inflamatoria crónica o no crónica.

- Por consiguiente, los péptidos tal como se definen más arriba, por ejemplo al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 y/o al menos un péptido quimérico de acuerdo con la SEQ ID N°: 11, y/o al menos una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 incluyendo una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas tal como se definen más arriba, se pueden utilizar en una realización específica de la presente invención para tratar enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se han definido anteriormente mediante la modulación de las vías de señales de JNK activadas.

- Alternativa y/o adicionalmente, para tratar enfermedades tales como las aquí mencionadas se pueden utilizar terapias dirigidas para suministrar las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y/o los ácidos nucleicos tal como se definen más arriba de forma más específica a determinados tipos de célula, mediante el uso de sistemas dirigidos tales como anticuerpos (dirigidos) o ligandos celulares específicos. Los anticuerpos utilizados para la dirección son típicamente específicos con respecto a las proteínas superficiales celulares de las células asociadas a cualquiera de las enfermedades arriba definidas. Por ejemplo, estos anticuerpos pueden estar dirigidos a anticuerpos de superficie celular, por ejemplo proteínas superficiales asociadas a células, tales como proteína DR MHC de clase II, CD18 (LFA-1 cadena beta), CD45RO, CD40 o Bgp95, o proteínas de superficie celular seleccionadas por ejemplo entre CD2, CD2, CD4, CD5, CD7, CD8, CD9, CD10, CD13, CD16, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD30, CD33, CD34, CD38, CD39, CD4, CD43, CD45, CD52, CD56, CD68, C071, CD138, etc. Los constructos dirigidos se pueden preparar típicamente por una unión covalente de las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la invención con un anticuerpo específico con respecto a una proteína de superficie celular o mediante una unión a un ligando específico de una célula. Las proteínas se pueden unir a un anticuerpo de este tipo o se pueden fijar al mismo mediante un enlace peptídico o por acoplamiento químico,

reticulación, etc. La terapia dirigida se puede llevar a cabo administrando a un paciente el constructo dirigido en una cantidad farmacéuticamente eficaz a través de cualquiera de las vías de administración definidas más abajo, por ejemplo, vía de administración intraperitoneal, nasal, intravenosa, oral y en parche. Preferentemente, las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos o los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la invención, unidos a los anticuerpos dirigidos o ligandos específicos de células tal como se definen más arriba, se pueden liberar *in vitro* o *in vivo*, por ejemplo por hidrólisis del enlace covalente, mediante peptidasas o mediante cualquier otro método adecuado. Alternativamente, si las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos o los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la invención están unidos a un ligando específico de células pequeñas, la liberación del ligando no se puede llevar a cabo. Si están presentes en la superficie celular, los péptidos quiméricos pueden entrar en la célula por la actividad de su secuencia de tráfico. La dirección puede ser deseable por diversas razones, por ejemplo si las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos y los ácidos nucleicos tal como se definen aquí de acuerdo con la invención son inaceptablemente tóxicos o si se requiere una dosis demasiado alta.

En lugar de administrar directamente las secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos tal como se definen aquí de acuerdo con la invención, éstos se podrían producir en las células diana mediante expresión a partir de un gen codificador introducido en las células, por ejemplo a partir de un vector viral a administrar. El vector viral típicamente codifica las secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos tal como se definen aquí de acuerdo con la invención. El vector se podría dirigir a las células específicas a tratar. Además, el vector podría contener elementos reguladores activados de forma más o menos selectiva por las células diana después de la regulación definida. Esta técnica representa una variante de la técnica VDEPT (*virus-directed enzyme prodrug therapy* - terapia con profármaco enzimático dirigido a virus) que utiliza proteínas maduras en lugar de sus formas precursoras.

Alternativamente, las secuencias inhibidoras de JNK y/o los péptidos quiméricos tal como se definen aquí se podrían administrar en una forma precursora mediante el uso de un anticuerpo o un virus. Estas secuencias inhibidoras de JNK y/o péptidos quiméricos se pueden convertir en la forma activa mediante un agente de activación producido en las células a tratar o dirigido a las mismas. Este tipo de enfoque se conoce a veces como ADEPT (*antibody-directed enzyme prodrug therapy* - terapia con profármaco enzimático dirigido a anticuerpos) o VDEPT (*virus-directed enzyme prodrug therapy* - terapia con profármaco enzimático dirigido a virus). En el primer caso, el agente de activación se dirige a las células mediante conjugación con un anticuerpo específico en relación con la célula, mientras que en el segundo caso el agente de activación, por ejemplo una secuencia inhibidora de JNK o el péptido quimérico, se produce en un vector mediante expresión a partir de ADN codificador en un vector viral (véase, por ejemplo, EP-A-415731 y WO 90/07936).

De acuerdo con otra realización, las secuencias inhibidoras de JNK, los péptidos quiméricos o los anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos tal como se definen aquí, por ejemplo una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 y/o un péptido quimérico de acuerdo con la SEQ ID N°: 11, y/o una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 incluyendo una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 y 21 a 22, o variantes o fragmentos de las mismas tal como se definen más arriba, se pueden utilizar en ensayos (*in vitro*) (por ejemplo inmunoensayos) para detectar, pronosticar, diagnosticar o controlar diversas afecciones y enfermedades seleccionadas entre las enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas arriba definidas, o para controlar el tratamiento de las mismas. El inmunoensayo se puede llevar a cabo mediante un método que consiste en poner en contacto una muestra procedente de un paciente con un anticuerpo para una secuencia inhibidora de JNK, un péptido quimérico o una secuencia de ácidos nucleicos, tal como se definen más arriba, bajo condiciones en las que se puede producir la unión inmuno-específica, y a continuación detectar o medir la cantidad de la eventual unión inmuno-específica por el anticuerpo. En una realización específica se puede utilizar un anticuerpo específico con respecto a una secuencia inhibidora de JNK, un péptido quimérico o una secuencia de ácidos nucleicos para analizar un tejido o muestra de suero de un paciente en cuanto a la presencia de JNK o una secuencia inhibidora de JNK. En este caso, un nivel aberrante de JNK es indicativo de enfermedad. Los inmunoensayos a utilizar incluyen, de forma no exclusiva, sistemas de ensayo competitivo y no competitivo mediante técnicas tales como *Western Blot*, radioinmunoensayo (RIA), ensayo con sustancias inmunoabsorbentes unidas a enzimas (ELISA), inmunoensayo en "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina por difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, inmunoensayos fluorescentes, ensayos de fijación de complemento, ensayos inmunoradiométricos e inmunoensayos de proteína A, etc. Alternativamente se pueden realizar ensayos (*in vitro*) mediante el suministro de las secuencias inhibidoras de JNK, péptidos quiméricos, secuencias de ácidos nucleicos o anticuerpos para secuencias inhibidoras de JNK o para péptidos quiméricos, tal como se definen más arriba, a células diana, típicamente seleccionadas por ejemplo entre células animales cultivadas, células humanas o microorganismos, y controlar la respuesta celular mediante métodos biofísicos habituales conocidos por los especialistas. Las células diana utilizadas típicamente pueden consistir en células cultivadas (*in vitro*) o células *in vivo*, es decir, células que componen los órganos o tejidos de animales o humanos vivos, o microorganismos que se encuentran en animales o humanos vivos.

La presente invención proporciona adicionalmente el uso de *kits* para fines diagnósticos o terapéuticos, en particular para el tratamiento, la prevención o el control de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se definen más arriba. El *kit* incluye uno o más recipientes que contienen secuencias inhibidoras de JNK, péptidos quiméricos, secuencias de ácidos nucleicos y/o anticuerpos con respecto a dichas secuencias inhibidoras de JNK o a péptidos quiméricos tal como se definen más arriba, por ejemplo un anticuerpo anti-secuencia inhibidora de JNK con

- respecto a una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2, con respecto a un péptido quimérico de acuerdo con la SEQ ID N°: 11, con respecto a una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 incluyendo una secuencia de tráfico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID N°: 5 a 8 y 21 a 22, o con respecto a variantes o fragmentos de las mismas tal como se definen más arriba, o un anticuerpo anti-secuencia inhibidora de JNK de este tipo y, opcionalmente, un compañero de unión marcado para el anticuerpo. El marcador así incorporado en el anticuerpo puede incluir, de forma no exclusiva, una fracción quimioluminiscente, enzimática, fluorescente, colorimétrica o radiactiva. En otra realización específica se proporcionan *kits* para uso diagnóstico en el tratamiento, la prevención o el control de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas tal como se definen más arriba, que comprenden uno o más recipientes que contienen ácidos nucleicos que codifican una secuencia inhibidora de JNK y/o un péptido quimérico tal como se definen más arriba, o alternativamente que son complementarios a éstos, y opcionalmente también se proporciona un compañero de unión marcado para estos ácidos nucleicos. En una realización específica alternativa, el *kit* se puede utilizar para los fines arriba indicados en forma de un *kit* que comprende uno o más recipientes, un par de cebadores de oligonucleótido (por ejemplo, cada uno de 6-30 nucleótidos de longitud) que pueden actuar como cebadores de amplificación para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; véase, por ejemplo, Innis y col., 1990. PCR PROTOCOLS, Academic Press, Inc., San Diego, CA), la reacción en cadena de la ligasa, reacción de sonda cíclica y similares, u otros métodos conocidos en la técnica relacionada con los ácidos nucleicos tal como se describen más arriba. El *kit* puede incluir opcionalmente una cantidad predeterminada de una secuencia inhibidora de JNK tal como se define más arriba, un péptido quimérico tal como se define más arriba, o ácidos nucleicos que codifican los mismos, para su uso como diagnóstico, patrón o control en los ensayos para los fines arriba indicados.
- A no ser que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos aquí utilizados tienen el significado entendido comúnmente por las personas expertas en la técnica a la que pertenece esta invención. Más abajo se describen métodos y materiales adecuados, aunque en la práctica o la prueba de la presente invención se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a los aquí descritos. Además, los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no establecen ninguna limitación. Otras características y ventajas de la invención se desprenden claramente de la siguiente descripción detallada y de las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- Figuras 1A-C Diagramas mostrando alineaciones de regiones de dominio JBD conservadas en los factores de transcripción indicados. Las secuencias inhibidoras de JNK aquí utilizadas se identificaron llevando a cabo alineaciones de secuencias. Las Figuras 1A-C muestran los resultados de esta alineación a modo de ejemplo. La FIG. 1A representa la región de mayor homología entre los JBD de IB1, IB2, c-Jun y ATF2. El Panel B representa la secuencia de aminoácidos de los JBD de L-IB1(s) y L-IB1 con fines comparativos. Los residuos completamente conservados se indican con asteriscos, mientras que los residuos cambiados a Ala en el vector GFP-JBD_{23Mut} se indican con círculos huecos. La FIG. 1C muestra las secuencias de aminoácidos de proteínas quiméricas que incluyen una secuencia inhibidora de JNK y una secuencia de tráfico. En el ejemplo mostrado, la secuencia de tráfico se deriva del polipéptido TAT del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y la secuencia inhibidora de JNK se deriva de un polipéptido IB1(s). Las secuencias de humano, ratón y rata son idénticas en los Paneles B y C.

Figura 2 Diagrama mostrando secuencias de péptidos de fusión TAT-IB genéricos de humano, ratón y rata.

Figura 3 Resultados clínicos después del tratamiento con XG-102 (SEQ ID N°: 11) en un estudio de IBD con un tratamiento donde se emplea XG-102 a una concentración de 1 y 100 µg/kg SC diarios.

- Figura 4 Curva dosis-respuesta después del tratamiento con XG-102 (SEQ ID N°: 11) en un estudio de IBD con un tratamiento donde se emplea XG-102 a una concentración de 0,01, 0,1, 1, 10, 100 y 1000 µg/kg SC diarios.

Figura 5 Resultados clínicos después del tratamiento con XG-102 (SEQ ID N°: 11) en un estudio de IBD con un tratamiento donde se emplea XG-102 (dosis única SC) a una concentración de 1 y 100 µg/kg SC como dosis única el día 0.

- Figura 6 Resultados clínicos después del tratamiento con XG-102 (SEQ ID N°: 11) en un estudio de IBD con un tratamiento donde se emplea XG-102 (diariamente, PO) a una concentración de 1 y 100 µg/kg PO como dosis repetida.

Figura 7 Resultados clínicos después del tratamiento con XG-102 (SEQ ID N°: 11) en un estudio de IBD con un tratamiento donde se emplea XG-102 (dosis única, PO) a una concentración de 1 y 100 µg/kg PO como dosis única el día 0.

- Figura 8 Macrófagos de cultivo primario se incubaron con XG-102 (SEQ ID N°: 11) y se lavaron a fondo. La presencia de XG-102 (SEQ ID N°: 11) se reveló utilizando un anticuerpo específico contra XG-102. El XG-102 se incorpora claramente en los macrófagos primarios.

- Figura 9 Se trataron ratones por tres vías de administración diferentes (s.c., i.v., i.p.) con péptidos C¹⁴-radiomarcados (1 mg/kg). Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la inyección y procesados para inmunorradiografía. Se expusieron secciones sagitales que revelaron la acumulación de péptidos XG-102 en el hígado, bazo y médula ósea predominantemente (XG-102: SEQ ID N°: 11).

- Figura 10 Inmunotinción contra XG-102 (SEQ ID N°: 11) en el hígado de ratas que habían recibido una inyección i.v. de 1 mg/kg de XG-102. Los animales fueron sacrificados 24 horas después de la inyección. La revelación se llevó a cabo con sustrato DAB. Esta figura muestra de nuevo la acumulación pronunciada de XG-102 en el hígado y especialmente en las células de Kupffer (macrófagos).
- 5 Figura 11 Inhibición de la Liberación de citoquina y quimiocina en dos líneas celulares. El XG-102 (SEQ ID N°: 11) inhibe la liberación de citoquina en líneas celulares tanto mieloides como linfoides, reduciendo la liberación de TNF α , IL-6 y MCP-1 inducida por LPS en células THP-1 (Paneles A-C) y la producción de IFN γ , IL-6 e IL-2 inducida por PMA y ionomicina en células Jurkat (Paneles D-F). El control (XG-101) es menos eficaz debido a su menor estabilidad.
- 10 Figura 12 Inhibición de la liberación de citoquina en células primarias. La XG-102 (SEQ ID N°: 11) también inhibe la liberación de citoquina en células primarias mieloides y linfoides, reduciendo la liberación de TNF α , IL-6 y RANTES (*Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted* - regulada tras activación, expresada por células T normales, y segregada) en macrófagos murinos (Paneles A-C) y la producción de TNF α e IFN γ inducida por PMA y ionomicina en células T murinas (Paneles D-E). Se producen efectos a concentraciones no tóxicas de XG-102 (Panel F).
- 15 Figura 13 Efecto en colitis inducida por TNBS. La JNK se activa en macrófagos y linfocitos de pacientes con enfermedad intestinal inflamatoria, respuesta que está en correlación con un aumento de la producción de TNF α , IL-6 e IFN γ en lesiones. La administración subcutánea de 50 y 100 mg/kg de XG-102 protege los ratones frente a la colitis inducida por TNBS (Paneles A-C), disminuyendo la DAI, la pérdida de peso y la hemorragia rectal.
- Figura 14 Secuencia de ADNc IB1 de rata y su secuencia de aminoácidos prevista (SEQ ID N°: 102).
- 20 Figura 15 Secuencia de proteína IB1 de rata codificada por el límite exón-intrón del donante de corte y empalme de gen rIB1 (SEQ ID N°: 103).
- Figura 16 Secuencia de proteína IB1 de *Homo sapiens* (SEQ ID N°: 104).
- Figura 17 Secuencia de ADNc IB1 de *Homo sapiens* (SEQ ID N°: 105).

Ejemplos

Ejemplo 1: Identificación de secuencias inhibidoras de JNK

- 25 Se identificaron secuencias de aminoácidos importantes para la interacción eficaz con JNK mediante alineaciones de secuencias entre JBD de dominio de unión a JNK conocidos. Una comparación de secuencias entre los JBD de IB1 [SEQ ID N°: 13], IB2 [SEQ ID N°: 14], c-Jun [SEQ ID N°: 15] y ATF2 [SEQ ID N°: 16] definió una secuencia de 8 aminoácidos débilmente conservada (FIG. 1A). Dado que los JBD de IB1 e IB2 son aproximadamente 100 veces más eficaces que c-Jun o ATF2 para unirse a JNK (Dickens y col., Science 277: 693 (1997), se razonó que los residuos
- 30 conservados entre IB1 e IB2 debían ser importantes para permitir la máxima unión. La comparación entre los JBD de IB1 e IB2 definió dos bloques de siete y tres aminoácidos altamente conservados entre las dos secuencias.
- Estos dos bloques están incluidos dentro de una secuencia peptídica de 19 aminoácidos en L-IB1 [SEQ ID N°: 1] y también se muestran por razones de comparación en una secuencia de péptido de 23 aa derivada de IB1 [SEQ ID N°: 17]. Estas secuencias se muestran en la FIG. 1B, las rayas en la secuencia LIB1 indican un hueco en la secuencia para
- 35 alinear los residuos conservados con LIB1(s).

Ejemplo 2: Preparación de proteínas de fusión inhibidoras de JNK

- Se sintetizaron proteínas de fusión inhibidoras de JNK de acuerdo con LA SEQ ID N°: 9 mediante enlace covalente del extremo C-terminal de la SEQ ID N°: 1 con un péptido portador N-terminal de 10 aminoácidos de longitud derivado del VIH-TAT4g 57 (Vives y col., J Biol. Chem. 272: 16010 (1997)) de acuerdo con la SEQ ID N°: 5 a través de un enlazante
- 40 consistente en dos residuos de prolina. Este enlazante se utilizó para posibilitar una flexibilidad máxima y prevenir cambios estructurales secundarios no deseados. También se prepararon los constructos básicos, que se designaron L-IB1(s) (SEQ ID N°: 1) y L-TAT [SEQ ID N°: 5], respectivamente.
- Se sintetizaron correspondientemente los péptidos retro-inverso totalmente D de acuerdo con la SEQ ID N°: 11. También se prepararon los constructos básicos, que se designaron D-IB1(s) [SEQ ID N°: 2] y D-TAT [SEQ ID N°: 6],
- 45 respectivamente.
- Se produjeron péptidos de fusión totalmente D y L de acuerdo con las SEQ ID N°: 9, 10, 11 y 12 mediante síntesis Fmoc clásica y además se analizaron mediante espectrometría de masas. Finalmente se purificaron mediante HPLC. Para determinar los efectos del enlazante de prolina se produjeron dos tipos de péptido TAT, uno con dos prolinas y otro sin ellas. La adición de las dos prolinas no parecía codificar la entrada o la localización del péptido TAT dentro de las
- 50 células. La FIG. 2 muestra péptidos genéricos que presentan los residuos de aminoácidos conservados.

Ejemplo 3: Inhibición de la muerte celular por IBD19

Se estudiaron los efectos de la secuencia de JBD de IB1(s) de 19 aa de longitud en las actividades biológicas de la JNK. La secuencia de 19 aa se unió por el extremo N-terminal a la Proteína Verde Fluorescente (*Green Fluorescent Protein*) (construido GFP JBP19), y se evaluó el efecto de este constructo en la apoptosis de células beta pancreáticas inducida por IL1. Previamente se había comprobado que este modo de apoptosis se bloqueaba mediante transfección con JBD₁₋₂₈₀, mientras que los inhibidores específicos de ERK1/2 o p38 no proporcionaban protección (véase Ammendrup y col., *supra*).

Se sintetizaron oligonucleótidos correspondientes a JBD19 que comprendían una secuencia conservada de 19 aminoácidos así como una secuencia mutada en las regiones completamente conservadas, y se insertaron direccionalmente en los sitios EcoRI y Sall del vector pEGFP-N1 que codifica la Proteína Verde Fluorescente (GFP - *Green Fluorescent Protein*) (de Clontech). Se cultivaron células TC-3 productoras de insulina en medio RPMI 1640 complementado con un 10% de suero bovino fetal, 100 µg/ml de estreptomycin, 100 unidades/ml de penicilina y glutamina 2 mM. Las células TC-3 productoras de insulina se sometieron a transfección con los vectores indicados y se añadió IL-1 (10 ng/ml) al medio de cultivo celular. Cuarenta y ocho horas después de la adición de IL-1 se contó el número de células apoptóticas utilizando un microscopio de fluorescencia de inversión. Las células apoptóticas se distinguieron de las células normales por la "vacuolización" característica del citoplasma y se contaron después de dos días.

GFP es el vector de expresión de Proteína Verde Fluorescente utilizado como control; JBD19 es el vector que expresa una GFP quimérica unida a la secuencia de 19 aa derivada del JBD de IB1; JBD19Mut es el mismo vector que GFP-JBD19, pero con un JBD mutado en cuatro residuos conservados tal como muestra la FIG. 1B; y JBO₁₋₂₈₀ es el vector GFP unido a la IBD completa (aa 1-280). El constructo de expresión GFP-JBD19 prevenía la apoptosis de células pancreáticas con la misma eficiencia que el JBD₁₋₂₈₀ completo.

Como controles adicionales, las secuencias mutadas en residuos IB1(s) completamente conservados tenían una capacidad muy reducida para prevenir la apoptosis.

Ejemplo 4: Importación celular de péptidos TAT-IB1 (s)

Se evaluó la capacidad de las formas enantioméricas L y D de los péptidos TAT y TAT-IB1 ("péptidos TAT-IB") para entrar en las células. Los péptidos L-TAT, D-TAT, L-TAT-IB1(s) y D-TAT-IB1(s) [SEQ ID N°: 5, 6, 9 y 12, respectivamente] se marcaron por adición N-terminal de un residuo de glicina conjugado con fluoresceína. Los péptidos marcados (1 µM) se añadieron a cultivos de células TC-3, que se mantuvieron tal como se describe en el Ejemplo 3. En momentos predeterminados, las células se lavaron con PBS y se fijaron durante cinco minutos en metanol-acetona (1:1) sumamente frío antes de examinarlas bajo un microscopio de fluorescencia. Como control se utilizó BSA marcado con fluoresceína (1 µM, 12 mol/mol de BSA). Los resultados demostraron que todos los péptidos marcados con fluoresceína arriba indicados habían entrado eficaz y rápidamente (menos de cinco minutos) en las células una vez añadidos al medio de cultivo. En cambio, la seroalbúmina bovina marcada con fluoresceína (BSA 1 µM, 12 mol de fluoresceína/mol de BSA) no entró en las células.

Un estudio de la evolución temporal demostró que la intensidad de la señal fluorescente para los péptidos enantioméricos L disminuía en un 70% después de un período de 24 horas. Después de 48 horas apenas había señal o no había señal en absoluto. En cambio, los péptidos D-TAT y D-TAT-IB1(s) eran extremadamente estables dentro de las células.

Las señales fluorescentes de estos péptidos retro-inverso totalmente D seguían siendo muy fuertes 1 semana después y la señal sólo disminuyó ligeramente 2 semanas después del tratamiento.

Ejemplo 5: Inhibición *in vitro* de la fosforilación de c-JUN, ATF2 y Elk1

Se investigaron *in vitro* los efectos de los péptidos en la fosforilación mediada por JNK de sus factores de transcripción diana. Se produjeron JNK1, JNK2 y JNK3 recombinadas y no activadas utilizando un *kit* de lisado de reticulocitos de conejo de TRANSCRIPCIÓN Y TRADUCCIÓN (Promega), y se utilizaron en ensayos de quinasa en fase sólida con c-Jun, ATF2 y Elk1, solos o fusionados con glutatión-S-transferasa (GST), como sustratos. Se llevaron a cabo estudios de dosis-respuesta donde se mezclaron péptidos L-TAT o L-TAT-IB1(s) (0-25 µM) con las quinasas JNK1, JNK2 o JNK3 recombinantes en tampón de reacción (Tris-acetato 20 mM, EGTA 1 mM, p-nitrofenilfosfato (pNPP) 10 mM, pirofosfato de sodio 5 mM, p-glicerofosfato 10 mM, ditiotretol 1 mM) durante 20 minutos. Las reacciones de quinasa se iniciaron mediante la adición de MgCl₂ 10 mM y 5 pCi³³P-γ-ATP y 1 µg de GST-Jun (aa 1-89), GST-ATF2 (aa 1-96) o GST-ELK1 (aa 307-428). Las proteínas de fusión de GST se compraron en Stratagene (La Jolla, CA).

También se añadieron a la mezcla 10 µl de perlas de glutatión-agarosa. Después, los productos de reacción se separaron mediante SDS-PAGE en un gel de poliacrilamida al 10% desnaturizante. El gel se secó y a continuación de expuso a películas de rayos X (Kodak). Con dosis de péptido TAT-IB(s) de tan solo 2,5 µM ya se observó una inhibición prácticamente completa de la fosforilación de c-Jun, ATF2 y Elk1 por JNK. Sin embargo, una excepción notable fue la ausencia de inhibición por TAT-IB(s) de la fosforilación de Elk1 por la JNK3. En conjunto, el péptido TAT-IB1(s) mostró efectos superiores en la inhibición de la fosforilación de sus factores de transcripción diana por la familia JNK. La

capacidad de los péptidos D-TAT, D-TAT-IB1(s) y L-TAT-IB1(s) (estudio con dosis de 0-250 μ M) para inhibir la fosforilación de GST-Jun (aa 1-73) por JNK1, JNK2 y JNK3 recombinantes se analizaron tal como se describe más arriba. En conjunto, el péptido D-TAT-IB1(s) disminuyó la fosforilación de c-jun mediada por JNK, pero a niveles aproximadamente 10-20 veces menos eficaces que el L-TAT-IB1(s).

5 **Ejemplo 6: Inhibición de la fosforilación de c-JUN por enlaces activados**

- Los efectos de los péptidos L-TAT o L-TAT-IB1(s) tal como se definen aquí en JNK activadas por estímulos estresantes se evaluaron utilizando GST-Jun para arrastrar JNK de células HeLa irradiadas con luz UV o células PTC tratadas con IL-1. Las células PTC se cultivaron tal como se describe más arriba. Las células HeLa se cultivaron en medio DMEM complementado con suero bovino fetal al 10%, 100 μ g/ml de estreptomicina, 100 unidades/ml de penicilina y glutamina 2 mM. Una hora antes de utilizarlas para la preparación del extracto celular, las células PTC se activaron con IL-2 tal como se describe más arriba, mientras que las células HeLa se activaron con luz UV (20 J/m²). Los extractos celulares se prepararon a partir del control, células HeLa irradiadas con luz UV y células TC-3 tratadas con IL-1 raspando los cultivos celulares en tampón de lisis (Tris-acetato 20 mM, EGTA 1 mM, 1% Triton X-100, p-nitrofenilfosfato 10 mM, pirofosfato de sodio 5 mM, glicerofosfato 10 mM, ditiotreitól 1 mM). Los desechos se retiraron por centrifugación durante cinco minutos a 15.000 rpm en un rotor SS-34 Beckman. Extractos de 100 μ g se incubaron durante una hora a temperatura ambiente con 1 μ g de GST-jun (aminoácidos 1-89) y 10 μ l de perlas de glutatión-agarosa (Sigma). Después de cuatro lavados con el tampón de raspado, las perlas se resuspendieron en el mismo tampón complementado con péptidos L-TAT o L-TAT-IB1(s) (25 μ M) durante 20 minutos. Después se iniciaron las reacciones de la quinasa mediante la adición de MgCl₂ 10 mM y 5 pCi³³P-gamma-dATP y se incubaron durante 30 minutos a 30°C.
- Después se separaron los productos de reacción mediante SDS-PAGE en un gel de poliácridamida al 10% desnaturizante. Los geles se secaron y a continuación se expusieron a películas de rayos X (Kodak). En estos experimentos, los péptidos TAT-1B(s) previnieron eficientemente la fosforilación de c-Jun por JNK activadas.

Ejemplo 7: Inhibición *in vivo* de fosforilación de c-JUN mediante péptidos TAT-IB(s) tal como se definen aquí

- Para determinar si los péptidos con permeabilidad celular tal como se definen aquí podían bloquear las señales de JNK *in vivo*, se utilizó un sistema GAL4 heterólogo. Células HeLa cultivadas como se describe más arriba se sometieron a cotransfección con el vector indicador 5XGAL-LUC junto con el constructo de expresión GAL-Jun (Stratagene) que incluía el dominio de activación de c-Jun (aminoácidos 1-89) enlazado al dominio de unión de ADN GAL4. La activación de la JNK se logró mediante la cotransfección de vectores que expresaban las quinasas situadas directamente aguas arriba MKK4 y MKK7 (véase Whitmarsh y col., Science 285: 1573 (1999)). En pocas palabras, 3x10⁵ células se sometieron a transfección con los plásmidos en placas de 3,5 cm utilizando DOTAP (Boehringer Mannheim) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para los experimentos que implicaban GAL-Jun, 20 ng del plásmido se sometieron a transfección con 1 μ g del plásmido indicador pFR-Luc (Stratagene) y 0,5 μ g de plásmidos de expresión de MKK4 o MKK7. Tres horas después de la transfección, los medios celulares se cambiaron y se añadieron péptidos TAT y TAT-IB1(s) (1 μ M). Dieciséis horas después se midieron las actividades de luciferasa utilizando el "Dual Reportes System" de Promega después de normalización al contenido proteínico. La adición del péptido TAT-IB1(s) bloqueaba la activación de c-Jun después de la activación de JNK mediada por MKK4 y MKK7. Dado que las células HeLa expresan las isoformas JNK1 y JNK2, pero no la isoforma JNK3, algunas células se sometieron a transfección con JNK3. De nuevo, el péptido TAT-IB1(s) inhibía la activación de c-Jun mediada por JNK2.

40 **Ejemplo 8: Síntesis de péptidos IB(s) retro-inversos totalmente D y variantes de los mismos**

- Los péptidos de la invención pueden ser péptidos de aminoácidos totalmente D sintetizados en inverso para prevenir la proteólisis natural (es decir, péptidos retro-inversos totalmente D). Un péptido retro-inverso totalmente D de la invención proporcionaría un péptido con propiedades funcionales similares a las del péptido nativo, donde los grupos laterales de los aminoácidos componentes corresponderían a la alineación del péptido nativo pero que conservaría un esqueleto resistente a la proteasa.

- Los péptidos retro-inversos de la invención son análogos sintetizados utilizando D-aminoácidos por la unión de los aminoácidos a una cadena peptídica de tal modo que la secuencia de aminoácidos en el análogo del péptido retro-inverso es exactamente opuesta a la del péptido seleccionado que sirve como patrón. Por ejemplo, si la proteína TAT natural (formada por aminoácidos L) tiene la secuencia GRKKRRQRRR [SEQ ID N°: 5], el análogo de péptido retro-inverso de este péptido (formado por aminoácidos D) tendría la secuencia RRRQRRKKRG [SEQ ID N°: 6]. En la técnica se conocen procedimientos para sintetizar una cadena de D-aminoácidos para formar los péptidos retro-inversos (véase, por ejemplo, Jameson y col., Nature, 368,744-746 (1994); Brady y col., Nature, 368,692-693 (1994); Guichard y col., J. Med. Chem. 39,2030-2039 (1996)). Específicamente, los retro-péptidos de acuerdo con las SEQ ID N°: 2, 4, 6, 8, 11-12, 18, 20, 22 y 25-26 se produjeron mediante síntesis Fmock clásica y se analizaron mediante Espectrometría de Masas. Finalmente se purificaron por HPLC.

Dado que un problema inherente de los péptidos nativos consiste en la degradación por proteasas naturales e inmunogenicidad inherente, los compuestos heterobivalentes o heteromultivalentes de esta invención se prepararán de modo que incluyan el "isómero retro-inverso" del péptido deseado. Por consiguiente, la protección del péptido frente a la

proteólisis natural debería aumentar la eficacia del compuesto heterobivalente o heteromultivalente específico, tanto prolongando la vida media como disminuyendo la magnitud de la respuesta inmunitaria dirigida a la destrucción activa de los péptidos.

Ejemplo 9: Actividad biológica a largo plazo de los péptidos IB(s) retro-inversos totalmente D y de las variantes de los mismos

La actividad biológica a largo plazo se predice para el heteroconjugado peptídico que contiene el D-TAT-IB(s) retro-inverso (véanse las secuencias quiméricas arriba mostradas) en comparación con el análogo de L-aminoácido nativo debido a la protección del péptido D-TAT-IB(s) frente a la degradación por proteasas nativas, como se muestra en el Ejemplo 5.

- 10 Se analizó la inhibición de la muerte de células beta pancreáticas inducida por IL-1 mediante el péptido D-TAT-IB1(s). Las células TC-3 se incubaron tal como se describe más arriba durante 30 minutos con una única adición de los péptidos indicados (1 μ M). Después se añadió IL-1 (10 ng/ml).

- 15 Después de dos días de incubación con IL-1, las células apoptóticas se contaron mediante el uso de yoduro de propidio y tinción nuclear Hoechst 33342. En cada experimento se contó un mínimo de 1.000 células. El péptido D-TAT-IB1 disminuyó la apoptosis inducida por IL-1 en una magnitud similar a la disminución lograda con péptidos L-TAT-IB.

- 20 También se analizó la inhibición a largo plazo de la muerte celular inducida por IL-1P mediante el péptido D-TAT-IB1. Células TC-3 se incubaron durante 30 minutos tal como se describe más arriba con una única adición de los péptidos indicados (1 μ M). Luego se añadió IL-1 (10 ng/ml), seguida de la adición de la citoquina cada dos días. Después de 15 días de incubación con IL-1 se contaron las células apoptóticas usando yoduro de propidio y tinción nuclear Hoechst 33342. Obsérvese que una única adición del péptido TAT-IB1 no confiere protección a largo plazo. En cada experimento se contó un mínimo de 1.000 células. De acuerdo con los resultados obtenidos, el D-TAT-IB1(s) proporcionó protección a largo plazo (15 días), pero el L-TAT-IB1(s) no lo hizo.

Ejemplo 10: Supresión de los factores de transcripción de INK por péptidos L-TAT-IB1(s) tal como se utilizan de acuerdo con la presente invención

- 25 Se llevaron a cabo ensayos de retardo en gel con una sonda doblemente marcada con AP-1 (5'-CGC TTG ATG ACT CAG CCG GAA-3' (SEQ ID N°: 101). Se trataron o no extractos nucleares de células HeLa durante una hora con 5 ng/ml TNF, tal como se ha indicado. Los péptidos TAT y L-TAT-IB1(s) utilizados de acuerdo con la presente invención se añadieron 30 minutos antes del TNF-alfa. Únicamente se muestra la parte del gel con el complejo de ADN específico de AP-1 (tal como se demuestra mediante experimentos de competición con competidores específicos y no específicos no marcados).

Los péptidos L-TAT-IB1(s) utilizados de acuerdo con la presente invención reducen la formación del complejo de unión AP-1 ADN en presencia de TNF-alfa.

Ejemplo 11: Inhibición de la actividad de INK endógena en células HepG2 utilizando un método de pocillo "todo en uno"

- 35 El día antes del experimento se sembraron células HepG2 a razón de 3.000 células/pocillo. Después se añadieron concentraciones crecientes de interleucina-1 [IL-1 beta] o de factor de necrosis tumoral [TNF alfa] (a) para activar JNK durante 30 minutos. Las células se sometieron a lisis en Hepes 20 mM, 0,5% Tween pH 7,4 y se procesaron para AlphaScreen JNK. (b) Z' para la actividad de JNK inducida por 10 ng/ml IL-1 y media en 384 pocillos/placa (n=96). (c) Inhibición de actividad de JNK inducida por IL-1 beta endógena mediante inhibidores de JNK químicos [staurosporina y SP600125]. (d) Efecto de inhibidores peptídicos L-TAT-IB1 (s) de acuerdo con la SEQ ID N°: 9 (abreviada aquí como L-JNKi) y D-TAT-IB1 (s) de acuerdo con la SEQ ID N°: 11 (abreviada aquí como D-JNKi) y JBD (corresponde a L-JNKi sin la secuencia TAT) en la actividad de JNK dependiente de IL-1. Todos los paneles son representativos de tres experimentos independientes (n=3).

Métodos: Ensayo de quinas AlphaScreen

- 45 Principio: AlphaScreen es una tecnología basada en perlas no radiactivas utilizada para estudiar interacciones biomoleculares en un formato de microplaca. El acrónimo ALPHA significa *Amplified Luminescence Proximity Homogeneous Assay* (ensayo homogéneo de proximidad por luminiscencia amplificada). Este ensayo implica una interacción biológica que acerca estrechamente una perla "donante" y una perla "receptora". Después tiene lugar una cascada de reacciones químicas que producen una señal amplificada. Tras una excitación por láser a 680 nm, un fotosensibilizador (ftalocianina) en la perla "donante" convierte el oxígeno ambiente a un estado singlete excitado. En sus 4 μ sec de vida media, la molécula de oxígeno singlete se puede difundir hasta aproximadamente 200 nm en solución y, si hay una perla "receptora" dentro de ese margen de proximidad, el oxígeno singlete reacciona con un derivado de tioxeno en la perla "receptora", generando quimioluminiscencia a 370 nm, que activa adicionalmente los fluoróforos contenidos en la misma perla "receptora". A continuación, los fluoróforos excitados emiten luz a 520-620 nm.
- 55 En ausencia de perla "receptora", el oxígeno singlete cae al estado fundamental y no se produce ninguna señal.

En primer lugar se diluyeron reactivos de quinasa (B-GST-cjun, anticuerpo anti-P-cJun y JNK3 activa) en tampón de quinasa (Tris-HCl 20 mM pH 7,6, MgCl₂ 10 mM, DTT 1 mM, Na₃VO₄ 100 mM, 0,01% Tween-20) y se añadieron a pocillos (15 µl). Después se incubaron las reacciones en presencia de 10 µM de ATP durante 1 h a 23°C. La detección se llevó a cabo mediante adición de 10 µl de mezcla de perlas (aceptador de Proteína A 20 µg/ml y donante de Estreptavidina 20 µg/ml), diluida en tampón de detección (Tris-HCl 20 mM pH 7,4, NaCl 20 mM, EDTA 80 mM, 0,3% BSA), seguida de otra hora de incubación a 23°C en oscuridad. Para medir la actividad endógena de JNK se llevaron a cabo ensayos de quinasa tal como se describe más arriba, excepto que la JNK3 activa se sustituyó por lisados celulares y que los componentes reactivos de quinasa se añadieron después de la lisis celular. El B-GST-cjun y el anticuerpo P-cJun se utilizaron en las mismas concentraciones, mientras que el ATP se utilizó en una concentración de 50 µM en lugar de 10 µM. La señal AlphaScreen se analizó directamente en el aparato Fusion o En Vision.

Ejemplo 12: Evaluación de la actividad terapéutica de los péptidos D- y L-TAT-IB1 (s) de acuerdo con la presente invención

a) Sistema de ensayo:

i) Especie/raza: Ratón 1 BALB/c.

ii) Procedencia: Harlan Israel, Ltd.

iii) Sexo: Hembra.

iv) Número total de animales: n=150.

v) Edad: Adultos jóvenes, 7 semanas de edad al comienzo del estudio.

vi) Peso corporal: La variación de peso de los animales en el momento del comienzo del tratamiento no sobrepasa el $\pm$ 20% del peso medio.

vii) Salud de los animales: El estado de salud de los animales utilizados en este estudio se examina a su llegada. Únicamente los animales con buena salud se aclimatan a las condiciones de laboratorio (al menos siete días) y se utilizan en el estudio.

viii) Aleatorización: Los animales se asignan aleatoriamente a los grupos experimentales de acuerdo con una Tabla de Números Aleatorios.

ix) Terminación: Al final del estudio, los animales supervivientes se sacrifican por dislocación cervical.

b) Constitución de grupos de ensayo y niveles de dosis.

La siguiente tabla muestra los grupos experimentales incluidos en el estudio.

Grupo n°	Tamaño del grupo	Elemento de ensayo	Vía	Dosis	Volumen (ml/kg)	Régimen
1F	N = 10	Vehículo	PO	0	5	Una vez al día durante 7 días
2F	N = 10	Sulfasalazina	PO	10 mg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
3F	N = 10	Remicade	IP	5 mg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
4F	N = 10	XG-102	SC	0,01 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
5F	N = 10	XG-102	SC	0,1 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
6F	N = 10	XG-102	SC	1 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
7F	N = 10	XG-102	SC	10 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días

Grupo n°	Tamaño del grupo	Elemento de ensayo	Vía	Dosis	Volumen (ml/kg)	Régimen
8F	N = 10	XG-102	SC	100 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
9F	N = 10	XG-102	SC	1000 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
10F	N = 10	XG-102	SC	1 µg/kg	5	Una sola dosis
11F	N = 10	XG-102	SC	100 µg/kg	5	Una sola dosis
12F	N = 10	XG-102	PO	1 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
13F	N = 10	XG-102	PO	100 µg/kg	5	Una vez al día durante 7 días
14F	N = 10	XG-102	PO	1 µg/kg	5	Una sola dosis
15F	N = 10	XG-102	PO	100 µg/kg	5	Una sola dosis
XG-102 = SEQ ID N°: 11; IP = administración intraperitoneal; PO = administración peroral; SC = administración subcutánea						

c) Procedimientos de ensayo

Se indujo colitis mediante administración de TNBS disuelto en 50% etanol.

- 5 Después, todos los animales fueron tratados con dosis de XG-102 entre 0,1 y 1000 µg/kg, vía intraperitoneal o subcutánea, en forma de dosis única o como dosis diarias reiteradas (véase más arriba).

d) Observaciones y exámenes

i) Síntomas clínicos

- 10 A lo largo de todo el experimento arriba indicado se llevaron a cabo y se registraron exámenes clínicos meticulosos. Las observaciones incluían cambios en el aspecto exterior, por ejemplo en la piel, pelo, ojos, membranas mucosas, la presencia de secreciones y excreciones (por ejemplo diarrea) y la actividad autónoma. También se anotaron los cambios en el modo de andar, la postura y la respuesta a la manipulación, así como la presencia de comportamientos extraños, temblores, convulsiones, sueño y coma.

ii) Peso corporal

El peso corporal individual de los animales se determinó diariamente.

- 15 iii) Evaluación clínica de la colitis

Todos los días se registraron el peso corporal, la consistencia de las deposiciones y la hemorragia *per rectum*, y estos datos se utilizaron como parámetros para calificar la gravedad de la enfermedad:

Calificación	Pérdida de peso (%)	Consistencia de las deposiciones	Presencia de sangre <i>per rectum</i>
0	Ninguna	Normal	Negativo
1	1-5	Enrojecimiento, hinchazón del ano	Negativo
2	5-10	Deposiciones sueltas	Negativo
3	10-15	Diarrea	Negativo
4	> 15	Diarrea	Hemorragia
5	Muerte		

iv) Patología gruesa del colon

El último día del experimento, los animales fueron sacrificados y se les extirpó el colon para evaluar la patología gruesa de acuerdo con la siguiente calificación:

Grado	Síntomas
0	Ninguna anomalía detectada.
1	Edema y enrojecimiento en un solo lugar.
2	Edema y enrojecimiento en más de un lugar, o edema y enrojecimiento masivo que ocupa más del 50% del colon.
3	Una úlcera
4	Más de una úlcera o una úlcera grave grande.

5 e) Resultados

i) Síntomas clínicos

Durante los exámenes clínicos subsiguientes al tratamiento con XG-102 (SEQ ID N°: 11) no se observó ninguna anomalía.

ii) Tasa de mortalidad

10 No se registró ninguna muerte.

iii) Peso corporal

El TNBS indujo una pérdida de peso significativa el día 1. La administración de XG-102 (SEQ ID N°: 11) previno la pérdida de peso o mejoró los síntomas y ayudó a la recuperación.

iv) Calificación clínica

15 Los animales tratados con vehículo inyectado con TNBS alcanzaron una calificación máxima el día de estudio 1 y sólo se recuperaron por completo el día 5 o después de éste. El tratamiento con sulfasalazina dio como resultado una reducción de la calificación clínica. El XG-102 (SEQ ID N°: 11), administrado utilizando cualquier dosis, vía o programa de administración tal como se define más arriba (una sola dosis o dosis diarias), produjo un efecto equivalente o mejor que el observado en el caso de la sulfasalazina, que es el fármaco de referencia habitualmente utilizado.

20 v) Calificación de patologías cruzadas

El análisis grueso al final del estudio reveló que los animales tratados con vehículo inyectado con TNBS presentaban edemas y úlceras a lo largo del colon. La sulfasalazina redujo por completo la patología gruesa con eficacia.

vi) Longitud del colon

No se observó ningún efecto de la inducción o el tratamiento de la enfermedad en la longitud del colon.

25 vii) Peso del colon

No se observó ningún efecto de la inducción o el tratamiento de la enfermedad en el peso del colon.

f) Conclusiones

30 En vista de los resultados arriba indicados, obtenidos bajo las condiciones del experimento arriba descrito y limitados a los datos en vida, la secuencia ejemplo XG-102 de acuerdo con la SEQ ID N°: 11 administrada por vía SC o PO presentaba una actividad que mejoraba la recuperación de la enfermedad.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> xigen S.A.

<120> utilización de inhibidores de péptidos con permeabilidad celular de la vía de transducción de señales de JNK para el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas

5 <130> CX01P021w01

<160> 105

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 19

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido L-IB1(s) (véase la Tabla 1)

15 <400> 1

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10 15

Ser Gln Asp

<210> 2

<211> 19

<212> PRT

20 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-IB1(s) (véase la Tabla 1)

25 <220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(19)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

30 <400> 2

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg

<210> 3

<211> 19

- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- 5 <223> Descripción de la secuencia: Péptido L-IB (genérico) (s) (véase la Tabla 1)
- <220>
- <221> misc_feature
- 10 <223> Descripción de la secuencia: fórmula general: NH₂-Xnb-Xna-RPTTLXXXXXXXXQDXnb-COOH (véase la Tabla 1)
- <220>
- <221> VARIANTE
- <222> (1) .. (1)
- 15 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo aminoácido (nativo);
- <220>
- <221> REPETICIÓN
- 20 <222> (1)..(1)
- <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb
- <220>
- 25 <221> VARIANTE
- <222> (2)..(2)
- <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina
- 30 <220>
- <221> REPETICIÓN
- <222> (2)..(2)
- <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0 o 1
- 35 <220>
- <221> VARIANTE
- <222> (8)..(8)
- <223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

- <220>
- <221> VARIANTE
- <222> (10)..(16)
- 5 <223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);
- <220>
- <221> REPETICIÓN
- 10 <222> (19)..(19)
- <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb
- <220>
- 15 <221> VARIANTE
- <222> (19)..(19)
- <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);
- 20 <400> 3
- Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
1 5 10 15
- Gln Asp Xaa**
- <210> 4
- <211> 19
- <212> PRT
- 25 <213> Artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia: Péptido D-IB (genérico) (s) (véase la Tabla 1)
- 30 <220>
- <221> misc_feature
- <223> Descripción de la secuencia: fórmula general: NH₂-Xnb-DQXXXXXXXXLXLTPR-Xna-Xnb-COOH,
- <220>
- 35 <221> MUTÁGENO
- <222> (1)..(19)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>

<221> VARIANTE

5 <222> (1)..(11)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

10 <221> REPETICIÓN

<222> (1)..(1)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

15 <220>

<221> VARIANTE

<222> (4)..(10)

<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

20

<220>

<221> VARIANTE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

25

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (18)..(18)

30 <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0 o 1

<220>

<221> VARIANTE

<222> (18)..(18)

35 <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>

<221> VARIANTE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

5 <220>

<221> REPETICIÓN

<222> (19)..(19)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

10

<220>

<221> VARIANTE

<222> (19)..(19)

15 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<400> 4

Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr Pro
1 5 10 15
Arg Xaa Xaa

<210> 5

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia: Péptido L-TAT (véase la Tabla 1)

<400> 5

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 6

30 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

35 <223> Descripción de la secuencia: Péptido D-TAT (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

5 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 6

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
1 5 10

<210> 7

10 <211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia: Péptido L-genérico-TAT (s) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> misc_feature

<223> Fórmula general: NH₂-Xnb-RKKRRQRRR-Xnb-COOH (véase la Tabla 1)

20

<220>

<221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

25 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (1)..(1)

30 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>

<221> VARIANTE

35 <222> (11)..(11)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (11)..(11)

5 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 7

Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa
1 5 10

10 <210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-genérico-TAT (s) (véase Tabla 1)

<220>

<221> misc_feature

<223> Fórmula general: NH₂-Xnb-RRRQRRKKR-Xnb-COOH

20 <220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

25 <220>

<221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

30

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (1)..(1)

35 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>

<221> VARIANTE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

5

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (11)..(11)

10 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 8

xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa
1 5 10

<210> 9

15 <211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20 <223> Descripción de la secuencia: L-TAT-IB1 (s) (véase la Tabla 1)

<400> 9

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Arg Pro Lys Arg
1 5 10 15

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
20 25 30

<210> 10

25 <211> 29

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> Descripción de la secuencia: Péptido L-TAT (genérico) (s) (véase Tabla 1)

<220>

<221> misc_feature

<223> Descripción de la secuencia: Fórmula general: NH₂-Xnb-RKKRRQRRR-Xnb-Xna-RPTTLXXXXXXXXXQD-Xnb-COOH

<220>

<221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

- 5 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

<221> REPETICIÓN

- 10 <222> (1)..(1)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<220>

- 15 <221> VARIANTE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

- 20 <220>

<221> REPETICIÓN

<222> (11)..(11)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

- 25

<220>

<221> VARIANTE

<222> (12)..(12)

- 30 <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (12)..(12)

- 35 <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0 o 1

<220>

<221> VARIANTE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

5 <221> VARIANTE

<222> (20)..(26)

<223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

10 <220>

<221> VARIANTE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

15

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (29)..(29)

20 <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 10

Xaa	Arg	Lys	Lys	Arg	Arg	Gln	Arg	Arg	Arg	Xaa	Xaa	Arg	Pro	Thr	Thr
1				5					10					15	
Leu	Xaa	Leu	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Gln	Asp	Xaa			
		20						25							

<210> 11

25 <211> 31

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> Descripción de la secuencia: Péptido D-TAT-IB1 (s) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(31)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

35

<400> 11

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10 15
 Lys Pro Arg Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
 20 25 30

- <210> 12
- <211> 29
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia: Péptido: D-TAT (genérico) (s) (véase Tabla 1)
- <220>
- 10 <221> misc_feature
- <223> Fórmula general: NH₂-Xnb-DQXXXXXXXXLXLTPR-Xna-Xnb-RRRQRRKKR-Xnb-COOH,
- <220>
- <221> MUTÁGENO
- 15 <222> (1)..(19)
- <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
- <220>
- <221> VARIANTE
- 20 <222> (1)..(1)
- <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);
- <220>
- 25 <221> REPETICIÓN
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb
- 30 <220>
- <221> VARIANTE
- <222> (4)..(10)
- <223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);
- 35

<220>

<221> VARIANTE

<222> (12)..(12)

5 <223> Xaa representa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

<221> VARIANTE

<222> (18)..(18)

10 <223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo) excepto serina y treonina

<220>

<221> REPETICIÓN

15 <222> (18)..(18)

<223> Xaa es Xna tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0 o 1

<220>

<221> VARIANTE

20 <222> (19)..(19)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

<220>

25 <221> REPETICIÓN

<222> (19)..(19)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

30 <220>

<221> VARIANTE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, representando Xaa un residuo de aminoácido, preferentemente consistente en cualquier residuo de aminoácido (nativo);

35

<220>

<221> REPETICIÓN

<222> (29)..(29)

<223> Xaa es Xnb tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnb

<400> 12

Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr Pro
1 5 10 15

Arg Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa
20 25

5

<210> 13

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido IB1-largo (véase la Tabla 1)

<400> 13

Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr
1 5 10 15

Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
20 25

15

<210> 14

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20

<223> Descripción de la secuencia: Péptido IB2-largo (véase la Tabla 1)

<400> 14

Ile Pro Ser Pro Ser Val Glu Glu Pro His Lys His Arg Pro Thr Thr
1 5 10 15

Leu Arg Leu Thr Thr Leu Gly Ala Gln Asp Ser
20 25

<210> 15

<211> 29

25

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido derivado de c-Jun (véase la Tabla 1)

<400> 15

Gly Ala Tyr Gly Tyr Ser Asn Pro Lys Ile Leu Lys Gln Ser Met Thr
1 5 10 15
Leu Asn Leu Ala Asp Pro Val Gly Asn Leu Lys Pro His
20 25

<210> 16

<211> 29

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido derivado de ATF2 (véase la Tabla 1)

10 <400> 16

Thr Asn Glu Asp His Leu Ala Val His Lys His Lys His Glu Met Thr
1 5 10 15
Leu Lys Phe Gly Pro Ala Arg Asn Asp Ser Val Ile Val
20 25

<210> 17

<211> 23

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido L-IB1 (véase la Tabla 1)

<400> 17

Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10 15
Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
20

20

<210> 18

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-IB1 (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(23)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

5 <400> 18

```

    Thr Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
    1          5          10          15

    Arg Lys Pro Arg Tyr Thr Asp
                20
  
```

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido L-IB (genérico) (véase la Tabla 1)

<220>

15 <221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido,

<220>

20 <221> VARIANTE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido,

<220>

25 <221> VARIANTE

<222> (9)..(15)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido,

<220>

30 <221> VARIANTE

<222> (18)..(18)

<223> Xaa se selecciona entre serina y treonina,

<220>

<221> VARIANTE

<222> (19)..(19)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido,

5 <400> 19

Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln
 1 5 10 15
 Asp Xaa Xaa

<210> 20

<211> 19

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-IB (genérico) (véase la Tabla 1)

<220>

15 <221> MUTÁGENO

<222> (1)..(19)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>

20 <221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

<220>

25 <221> VARIANTE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa se selecciona entre serina y treonina

<220>

30 <221> VARIANTE

<222> (5)..(11)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

<220>

<221> VARIANTE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

5 <220>

<221> VARIANTE

<222> (19)..(19)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

10 <400> 20

Xaa Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr
1 5 10 15

Pro Arg Xaa

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido L-genérico-TAT (véase la Tabla 1)

20 <220>

<221> VARIANTE

<222> (1)..(17)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

25 <400> 21

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-genérico-TAT (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(17)

5 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>

<221> VARIANTE

<222> (1)..(17)

10 <223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

<400> 22

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 23

15 <211> 35

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20 <223> Descripción de la secuencia: Péptido L-TAT-IB1 (véase la Tabla 1)

<400> 23

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Asp Thr Tyr Arg
1 5 10 15

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
20 25 30

Gln Asp Thr
35

<210> 24

<211> 42

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido L-TAT IB (genérico) (véase Tabla 1)

30 <220>

<221> VARIANTE

<222> (1)..(40)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

5 <220>

<221> VARIANTE

<222> (41)..(41)

<223> Xaa se selecciona entre serina y treonina

10 <220>

<221> VARIANTE

<222> (42)..(42)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

15 <400> 24

```

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1      5      10      15
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa
20      25      30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asp Xaa Xaa
35      40

```

<210> 25

<211> 35

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-TAT-IB1 (véase la Tabla 1)

25

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(35)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

30

<400> 25

Thr Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10 15
 Arg Lys Pro Arg Tyr Thr Asp Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys
 20 25 30
 Lys Arg Gly
 35

<210> 26

<211> 42

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: Péptido D-TAT IB (genérico) (véase Tabla 1)

<220>

10 <221> MUTÁGENO

<222> (1)..(42)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>

15 <221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

<220>

20 <221> VARIANTE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa se selecciona entre serina o treonina

<220>

25 <221> VARIANTE

<222> (3)..(42)

<223> Xaa puede consistir en cualquier residuo de aminoácido

<400> 26

```

Xaa Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr
1      5      10      15
.
Pro Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg

                20                25                30

Lys Lys Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35      40

```

<210> 27

<211> 30

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de péptido quimérico L-TAT-IB1(s1) (véase la Tabla 1)

<400> 27

```

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Arg Pro Lys Arg Pro
1      5      10      15
Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
20      25      30

```

10

<210> 28

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de péptido quimérico L-TAT-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> VARIANTE

20 <222> (11)..(11)

<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>

<221> REPETICIÓN

25 <222> (11)..(11)

<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 28

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Arg Pro Lys Arg Pro
 1 5 10 15
 Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
 20 25 30

<210> 29

<211> 29

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de péptido quimérico L-TAT-IB1(s3) (véase la Tabla 1)

10 <220>

<221> VARIANTE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

15 <220>

<221> REPETICIÓN

<222> (10)..(10)

<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

20

<400> 29

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Arg Pro Lys Arg Pro Thr
 1 5 10 15
 Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
 20 25

<210> 30

<211> 30

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de péptido quimérico D-TAT-IB1(s1) (véase la Tabla 1)

30 <220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(30)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 30

```

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1      5      10      15
Lys Pro Arg Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
20      25      30

```

5 <210> 31

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de péptido quimérico D-TAT-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

15 <222> (1)..(30)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>

<221> VARIANTE

20 <222> (20)..(20)

<223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>

<221> REPETICIÓN

25 <222> (20)..(20)

<223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 31

```

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1      5      10      15
Lys Pro Arg Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
20      25      30

```

30

<210> 32

- <211> 29
<212> PRT
<213> Artificial
- 5 <220>
<223> Descripción de la secuencia: secuencia de péptido quimérico D-TAT-IB1(s3) (véase la Tabla 1)
<220>
<221> MUTÁGENO
<222> (1)..(29)
- 10 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)..(20)
- 15 <223> Xaa se selecciona entre glicina o prolina

<220>
<221> REPETICIÓN
<222> (20)..(20)
- 20 <223> Xaa es Xnc tal como se define en la fórmula general, siendo n igual a 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 o más para Xnc

<400> 32
- | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Gln | Ser | Arg | Pro | Val | Gln | Pro | Phe | Leu | Asn | Leu | Thr | Thr | Pro | Arg |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | | 15 | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Lys | Pro | Arg | Xaa | Arg | Arg | Arg | Gln | Arg | Arg | Lys | Lys | Arg | | | |
| | | | 20 | | | | 25 | | | | | | | | |
- 25 <210> 33
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial
- 30 <220>
<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s1) (véase la Tabla 1)
<400> 33
- | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Leu | Asn | Leu | Phe | Pro | Gln | Val | Pro | Arg | Ser | Gln | Asp |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | |

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

5

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s2) (véase la Tabla 1)

<400> 34

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

10 <210> 35

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s3) (véase la Tabla 1)

<400> 35

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 36

20 <211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s4) (véase la Tabla 1)

<400> 36

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 37

<211> 13

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s5) (véase la Tabla 1)

<400> 37

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

<210> 38

<211> 13

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s6) (véase la Tabla 1)

10 <400> 38

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 39

<211> 13

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s7) (véase la Tabla 1)

<400> 39

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

20

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s8) (véase la Tabla 1)

<400> 40

Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

30 <210> 41

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-181(s9) (véase la Tabla 1)

<400> 41

5

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

<210> 42

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s10) (véase la Tabla 1)

<400> 42

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

15

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s11) (véase la Tabla 1)

<400> 43

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 44

<211> 12

25

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s12) (véase la Tabla 1)

30

<400> 44

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s13) (véase la Tabla 1)

<400> 45

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 46

<211> 12

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s14) (véase la Tabla 1)

15 <400> 46

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

20 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s15) (véase la Tabla 1)

<400> 47

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

25

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s16) (véase la Tabla 1)

<400> 48

Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

<210> 49

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s17) (véase la Tabla 1)

<400> 49

Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

10

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s18) (véase la Tabla 1)

<400> 50

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser
1 5 10

20 <210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s19) (véase la Tabla 1)

<400> 51

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
1 5 10

<210> 52

30 <211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s20) (véase la Tabla 1)

<400> 52

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro
1 5 10

5 <210> 53

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

10 <220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s21) (véase la Tabla 1)

<400> 53

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

15 <210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s22) (véase la Tabla 1)

<400> 54

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

<210> 55

25 <211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s23) (véase la Tabla 1)

<400> 55

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

	<210> 56	
	<211> 11	
	<212> PRT	
5	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s24) (véase la Tabla 1)	
10	<400> 56	
		Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe 1 5 10
	<210> 57	
	<211> 10	
15	<212> PRT	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s25) (véase la Tabla 1)	
20	<400> 57	
		Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp 1 5 10
	<210> 58	
25	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial	
	<220>	
30	<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s26) (véase la Tabla 1)	
	<400> 58	
		Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln 1 5 10

	<210> 59	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s27) (véase la Tabla 1)	
	<400> 59	
10		Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser 1 5 10
	<210> 60	
	<211> 10	
	<212> PRT	
15	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s28) (véase la Tabla 1)	
20	<400> 60	
		Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg 1 5 10
	<210> 61	
	<211> 10	
25	<212> PRT	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s29) (véase la Tabla 1)	
30	<400> 61	
		Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro 1 5 10
	<210> 62	

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s30) (véase la Tabla 1)

<400> 62

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

10 <210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s31) (véase la Tabla 1)

<400> 63

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

20

<210> 64

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s32) (véase la Tabla 1)

<400> 64

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

30

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

35 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s33) (véase la Tabla 1)

5 <400> 65

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe
1 5 10

<210> 66

<211> 10

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: L-IB1(s34) (véase la Tabla 1)

15

<400> 66

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 67

20 <211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s1) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(13)

30 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 67

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<211> 13

<213> Artificial

<220>

<220>

<222> (1)..(13)

<400> 68

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<211> 13

20 <213> Artificial

<220>

25 <220>

<222> (1)..(13)

30 <400> 69

Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<211> 13

61

	<213> Artificial
	<220>
	<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s4) (véase la Tabla 1)
5	<220>
	<221> MUTÁGENO
	<222> (1)..(13)
	<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
10	<400> 70
	Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg 1 5 10
	<210> 71
15	<211> 13
	<212> PRT
	<213> Artificial
	<220>
20	<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s5) (véase la Tabla 1)
	<220>
	<221> MUTÁGENO
	<222> (1)..(13)
25	<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
	<400> 71
	Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro 1 5 10
30	<210> 72
	<211> 13
	<212> PRT
	<213> Artificial
35	<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s6) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

5 <222> (1)..(13)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 72

Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

10 <210> 73

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

15 <220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s7) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

20 <222> (1)..(13)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 73

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

25

<210> 74

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

30

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s8) (véase la Tabla 1)

<220>

35 <221> MUTÁGENO

<222> (1)..(12)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 74

5

Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s9) (véase la Tabla 1)

15 <220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(12)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

20 <400> 75

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 76

<211> 12

25 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s10) (véase la Tabla 1)

30

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(12)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

35

<400> 76

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 77

5 <211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s11) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(12)

15 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 77

Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

20 <210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

25 <220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s12) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

30 <222> (1)..(12)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 78

Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

- <210> 79
- <211> 12
- <212> PRT
- 5 <213> Artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s13) (véase la Tabla 1)
- 10 <220>
- <221> MUTÁGENO
- <222> (1)..(12)
- <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
- 15 <400> 79
- Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10
- <210> 80
- <211> 12
- 20 <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s14) (véase la Tabla 1)
- 25 <220>
- <221> MUTÁGENO
- <222> (1)..(12)
- <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
- 30 <400> 80
- Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10
- <210> 81
- 35 <211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

5 <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s15) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(12)

10 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 81

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
1 5 10

15 <210> 82

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

20 <220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s16) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

25 <222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 82

Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

30

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s17) (véase la Tabla 1)

<220>

5 <221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 83

10

Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s18) (véase la Tabla 1)

20 <220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

25 <400> 84

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 85

<211> 11

30 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s19) (véase la Tabla 1)

35

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

5

<400> 85

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

<210> 86

10 <211> 11

<212> PRT

<213> artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s20) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

20 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 86

Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

25 <210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

30 <220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s21) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

35 <222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 87

Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

5

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s22) (véase la Tabla 1)

<220>

15

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 88

Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

20

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

25

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IBI(s23) (véase la Tabla 1)

<220>

30

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 89

Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 90

<211> 11

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s24) (véase la Tabla 1)

10

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(11)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

15

<400> 90

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 91

20 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s25) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

30 <223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 91

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu
1 5 10

	<210> 92
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> Artificial
5	
	<220>
	<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s26) (véase la Tabla 1)
	<220>
10	<221> MUTÁGENO
	<222> (1)..(10)
	<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
	<400> 92
15	Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn 1 5 10
	<210> 93
	<211> 10
	<212> PRT
20	<213> Artificial
	<220>
	<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s27) (véase la Tabla 1)
25	<220>
	<221> MUTÁGENO
	<222> (1)..(10)
	<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos
30	<400> 93
	Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu 1 5 10
	<210> 94
	<211> 10
35	<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s28) (véase la Tabla 1)

5

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

10

<400> 94

Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
1 5 10

<210> 95

15

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

20

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s29) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

25

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 95

Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
1 5 10

30

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s30) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

5 <222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 96

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
1 5 10

10

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s31) (véase la Tabla 1)

<220>

20 <221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

<400> 97

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10

25

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s32) (véase la Tabla 1)

35 <220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

5 <400> 98

Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 99

<211> 10

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s33) (véase la Tabla 1)

15

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

20

<400> 99

Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 100

25 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> Descripción de la secuencia: D-IB1(s34) (véase la Tabla 1)

<220>

<221> MUTÁGENO

<222> (1)..(10)

<223> todos los aminoácidos son D-aminoácidos

35

<400> 100

Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 101

5 <211> 21

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

10 <223> Descripción de secuencia: sonda marcada doblemente con ap-1 (ver p. 60)

<400> 101

cgcttgatga gtcagccgga a 21

15 <210> 102

<211> 2953

<212> ADN

<213> Artificial

20 <220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de ADNc IB1 de rata y su secuencia de aminoácidos prevista (véase la Figura 1)

<220>

25 <221> CDS

<222> (108)..(2252)

<400> 102

ccgccccagc tcagtccgaa ccccgcgggcg gcggcggcct cctccacacg cctccacctc	60
cgccgcgcgc gccgcgcgcg ccgcctcccg cgccgctctc cgcccgg atg gcc agg	116
	Met Ala Arg 1
ctg agc ccg gga atg gcg gag cga gag agc ggc ctg agc ggg ggt gcc	164
Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser Gly Gly Ala	
	5 10 15
gcg tcc cca ccg gcc gct tcc cca ttc ctg gga ctg cac atc gcg tcg	212
Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser	
	20 25 30 35
cct ccc aat ttc agg ctc acc cat gat atc agc ctg gag gag ttt gag	260
Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu	
	40 45 50
gat gaa gac ctt tcg gag atc act gat gag tgt ggc atc agc ctg cag	308
Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln	
	55 60 65
tgc aaa gac acc ttg tct ctc cgg ccc ccg cgc gcc ggg cta ctg tct	356
Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser	
	70 75 80
gcg ggt agc agc ggt agc gcg ggg agc cgg ctg cag gcg gag atg ctg	404
Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu	
	85 90 95
cag atg gac ctg atc gac gcg gca agt gac act ccg ggc gcc gag gac	452
Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp	
	100 105 110 115
gac gaa gag gac gac gac gag ctc gct gcc caa cgg cca gga gtg ggg	500
Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro Gly Val Gly	
	120 125 130
cct tcc aaa gcc gag tct ggc cag gag ccg gcg tct cgc agc cag ggt	548
Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Ser Gln Gly	
	135 140 145
cag ggc cag ggc ccc ggc aca ggc tgc gga gac acc tac cgg ccc aag	596
Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys	
	150 155 160
agg cct acc acg ctc aac ctt ttc ccg cag gtg ccg cgg tct cag gac	644
Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp	
	165 170 175
acg ctg aat aat aac tct tta ggc aaa aag cac agt tgg cag gac cgt	692
Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg	
	180 185 190 195
gtg tct cga tca tcc tcc cct ctg aag aca ggg gag cag acg cct cca	740
Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro	
	200 205 210
cat gaa cat atc tgc ctg agt gat gag ctg ccg ccc cag ggc agt cct	788
His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Gly Ser Pro	

215				220				225								
ggt Val	ccc Pro	acc Thr 230	cag Gln	gat Asp	cgt Arg	ggc Gly	act Thr 235	tcc Ser	acc Thr	gac Asp	agc Ser	cct Pro 240	tgt Cys	cgc Arg	cgt Arg	836
act Thr	gca Ala 245	gcc Ala	acc Thr	cag Gln	atg Met	gca Ala 250	cct Pro	cca Pro	agt Ser	ggg Gly	ccc Pro 255	cct Pro	gcc Ala	act Thr	gca Ala	884
cct Pro 260	ggg Gly	ggc Gly	cgg Arg	ggc Gly	cac His 265	tcc Ser	cat His	cga Arg	gat Asp	cgg Arg 270	tcc Ser	ata Ile	tca Ser	gca Ala	gat Asp 275	932
gtg Val	cgg Arg	ctc Leu	gag Glu	gcg Ala 280	act Thr	gag Glu	gag Glu	atc Ile	tac Tyr 285	ctg Leu	acc Thr	cca Pro	gtg Val	cag Gln 290	agg Arg	980
ccc Pro	cca Pro	gac Asp	cct Pro 295	gca Ala	gaa Glu	ccc Pro	acc Thr	tcc Ser 300	acc Thr	ttc Phe	ttg Leu	cca Pro	ccc Pro 305	act Thr	gag Glu	1028
agc Ser	cgg Arg	atg Met 310	tct Ser	gtc Val	agc Ser	tcg Ser	gat Asp 315	cct Pro	gac Asp	cct Pro	gcc Ala	gct Ala 320	tac Tyr	tct Ser	gta Val	1076
act Thr	gca Ala 325	ggg Gly	cga Arg	ccg Pro	cac His	cct Pro 330	tcc Ser	atc Ile	agt Ser	gaa Glu	gag Glu 335	gat Asp	gag Glu	ggc Gly	ttc Phe	1124
gac Asp 340	tgt Cys	ctg Leu	tca Ser	tcc Ser	cca Pro 345	gag Glu	caa Gln	gct Ala	gag Glu	cca Pro 350	cca Pro	ggg Gly	gga Gly	ggg Gly	tgg Trp 355	1172
cgg Arg	gga Gly	agc Ser	ctc Leu	ggg Gly 360	gag Glu	cca Pro	cca Pro	ccg Pro	cct Pro 365	cca Pro	cgg Arg	gcc Ala	tca Ser	ctg Leu 370	agc Ser	1220
tcg Ser	gac Asp	acc Thr	agc Ser 375	gca Ala	ctg Leu	tcc Ser	tac Tyr	gac Asp 380	tct Ser	gtc Val	aag Lys	tac Tyr	aca Thr 385	ctg Leu	gtg Val	1268
gtg Val	gat Asp	gag Glu 390	cat His	gcc Ala	cag Gln	ctt Leu	gag Glu 395	ttg Leu	gtg Val	agc Ser	ctg Leu	cgg Arg 400	cca Pro	tgt Cys	ttt Phe	1316
gga Gly	gat Asp 405	tac Tyr	agt Ser	gac Asp	gaa Glu	agc Ser 410	gac Asp	tct Ser	gcc Ala	act Thr	gtc Val 415	tat Tyr	gac Asp	aac Asn	tgt Cys	1364
gcc Ala 420	tct Ser	gcc Ala	tcc Ser	tcg Ser	ccc Pro 425	tac Tyr	gag Glu	tca Ser	gcc Ala	att Ile 430	ggg Gly	gag Glu	gaa Glu	tat Tyr	gag Glu 435	1412
gag Glu	gcc Ala	cct Pro	caa Gln	ccc Pro 440	cgg Arg	cct Pro	ccc Pro	acc Thr	tgc Cys 445	ctg Leu	tca Ser	gag Glu	gac Asp	tcc Ser 450	aca Thr	1460
ccg Pro	gat Asp	gag Glu	cct Pro 455	gac Asp	gtc Val	cac His	ttc Phe	tct Ser 460	aag Lys	aag Lys	ttt Phe	ctg Leu	aat Asn 465	gtc Val	ttc Phe	1508
atg Met	agt Ser	ggc Gly 470	cgc Arg	tct Ser	cgt Arg	tcc Ser	tcc Ser 475	agt Ser	gcc Ala	gag Glu	tcc Ser	ttt Phe 480	ggg Gly	ctg Leu	ttc Phe	1556
tcc Ser	tgt Cys	gtc Val	atc Ile	aat Asn	ggg Gly	gag Glu	gag Glu	cat His	gag Glu	caa Gln	acc Thr	cat His	cgg Arg	gct Ala	ata Ile	1604

485	490	495	
ttc agg ttt gtg cct cgg cat gaa gat gaa ctt gag ctg gaa gtg gac Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Val Asp 500 505 510 515			1652
gac cct ctg ctg gtg gag ctg cag gca gaa gac tat tgg tat gag gcc Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala 520 525 530			1700
tat aac atg cgc act gga gcc cgt ggt gtc ttt cct gcc tac tat gcc Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala 535 540 545			1748
att gag gtc acc aag gag cct gag cac atg gca gcc ctt gcc aaa aac Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Lys Asn 550 555 560			1796
agc gac tgg att gac cag ttc cgg gtg aag ttc ctg ggc tct gtc cag Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln 565 570 575			1844
gtt cct tat cac aag ggc aat gat gtc ctc tgt gct gct atg caa aag Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys 580 585 590 595			1892
atc gcc acc acc cgc cgg ctc acc gtg cac ttt aac ccg ccc tcc agc Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser 600 605 610			1940
tgt gtc ctt gaa atc agc gtt agg ggt gtc aag ata ggt gtc aaa gct Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala 615 620 625			1988
gat gaa gct cag gag gcc aag gga aat aaa tgt agc cac ttt ttc cag Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln 630 635 640			2036
cta aaa aac atc tct ttc tgt ggg tac cat cca aag aac aac aag tac Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr 645 650 655			2084
ttt ggg ttt atc act aag cac cct gct gac cac cgg ttt gcc tgc cat Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His 660 665 670 675			2132
gtc ttt gtg tct gaa gat tcc acc aaa gcc ctg gca gag tct gtg ggg Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly 680 685 690			2180
cgt gca ttt cag cag ttc tac aag caa ttt gtg gaa tat acc tgt cct Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro 695 700 705			2228
aca gaa gat atc tac ttg gag tag cagcaacccc cctctctgca gccccctcagc Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu 710			2282
cccaggccag tactaggaca gctgactgct gacaggatgt tgtactgccca cgagagaatg			2342
ggggagtgag ggctgttggg gtcggggggc aggggttttg ggagaggcag atgcagttta			2402
ttgtaatat tggggttaga ttaatctatg gaggacagta caggctctct cggggctggg			2462
gaagggcagg gctgggggtgg gggtcaggca tctggccaca aaggggtccc ctagggacag			2522
aggcgtgca ccatcctggg cttgtttcat actagaggcc ctggctttct ggctcttggg			2582

```

tcctgccttg acaaagccca gccacctgga agtgtcacct tcccttgtcc acctcaccca 2642
gtgccctgag ctcatgctga gccaagcac ctccgaagga cttccagta aggaaatggc 2702
aacatgtgac agtgagaccc tgttctcatc tgtggggctc cggcagctcc gacccccagc 2762
ctggccagca cgctgaccct ggcaagcttg tgtgttcaaa gaaggagagg gccacagcaa 2822
gccctgcctg ccaggggaagg ttccctctca gctggcccca gccactggt cactgtcttg 2882
tcacctggct actactatta aagtgccatt tcttgtctga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2942
aaaaactcga g 2953

```

<210> 103

<211> 714

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia: Proteína IB1 codificada por Límite Exón-Intrón del donante de corte y empalme de gen rIB1

10

<400> 103

```

Met Ala Arg Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser
1          5          10          15
Gly Gly Ala Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His
20          25          30
Ile Ala Ser Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu
35          40          45
Glu Phe Glu Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile
50          55          60
Ser Leu Gln Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly
65          70          75          80
Leu Leu Ser Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala
85          90          95
Glu Met Leu Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly
100         105         110
Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro
115         120         125

```

Gly Val Gly Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg
 130 135 140
 Ser Gln Gly Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr
 145 150 155 160
 Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
 165 170 175
 Ser Gln Asp Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp
 180 185 190
 Gln Asp Arg Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln
 195 200 205
 Thr Pro Pro His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln
 210 215 220
 Gly Ser Pro Val Pro Thr Gln Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro
 225 230 235 240
 Cys Arg Arg Thr Ala Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Ser Gly Pro Pro
 245 250 255
 Ala Thr Ala Pro Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ser Ile
 260 265 270
 Ser Ala Asp Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro
 275 280 285
 Val Gln Arg Pro Pro Asp Pro Ala Glu Pro Thr Ser Thr Phe Leu Pro
 290 295 300
 Pro Thr Glu Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala
 305 310 315 320
 Tyr Ser Val Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Asp
 325 330 335
 Glu Gly Phe Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Gln Ala Glu Pro Pro Gly
 340 345 350

Gly Gly Trp Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala
 355 360 365
 Ser Leu Ser Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr
 370 375 380
 Thr Leu Val Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg
 385 390 395 400
 Pro Cys Phe Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr
 405 410 415
 Asp Asn Cys Ala Ser Ala Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu
 420 425 430
 Glu Tyr Glu Glu Ala Pro Gln Pro Arg Pro Pro Thr Cys Leu Ser Glu
 435 440 445
 Asp Ser Thr Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu
 450 455 460
 Asn Val Phe Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe
 465 470 475 480
 Gly Leu Phe Ser Cys Val Ile Asn Gly Glu Glu His Glu Gln Thr His
 485 490 495
 Arg Ala Ile Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu
 500 505 510
 Glu Val Asp Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp
 515 520 525
 Tyr Glu Ala Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala
 530 535 540
 Tyr Tyr Ala Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu
 545 550 555 560
 Ala Lys Asn Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly
 565 570 575
 Ser Val Gln Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala
 580 585 590
 Met Gln Lys Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro
 595 600 605

Pro Ser Ser Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly
 610 615 620
 Val Lys Ala Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His
 625 630 635 640
 Phe Phe Gln Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn
 645 650 655
 Asn Lys Tyr Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe
 660 665 670
 Ala Cys His Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu
 675 680 685
 Ser Val Gly Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr
 690 695 700
 Thr Cys Pro Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

<210> 104

5

<211> 711

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10 <220>

<223> Descripción de la secuencia: secuencia de proteína IB1 humana

<400> 104

Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ala Ala Ser Pro
 1 5 10 15
 Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser Pro Pro Asn
 20 25 30
 Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu Asp Glu Asp
 35 40 45
 Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln Cys Lys Asp
 50 55 60
 Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gly Gly
 65 70 75 80
 Gly Gly Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu Gln Met Asp Leu
 85 90 95
 Ile Asp Ala Thr Gly Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp
 100 105 110
 Asp Asp Glu Glu Arg Ala Ala Arg Arg Pro Gly Ala Gly Pro Pro Lys
 115 120 125
 Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Gly Gln Gly Gln Ser Gln
 130 135 140
 Gly Gln Ser Gln Gly Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg
 145 150 155 160
 Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
 165 170 175
 Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg Val
 180 185 190
 Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro His
 195 200 205
 Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Ser Gly Pro Ala
 210 215 220

Pro Thr Thr Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro Cys Arg Arg Ser
 225 230 235 240
 Thr Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Gly Gly Pro Pro Ala Ala Pro Pro
 245 250 255
 Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ile His Tyr Gln Ala Asp
 260 265 270
 Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro Val Gln Arg
 275 280 285
 Pro Pro Asp Ala Ala Glu Pro Thr Ser Ala Phe Leu Pro Pro Thr Glu
 290 295 300
 Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala Tyr Pro Ser
 305 310 315 320
 Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Glu Glu Gly Phe
 325 330 335
 Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly Gly Gly Trp
 340 345 350
 Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Arg Ala Ser Leu Ser
 355 360 365
 Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr Thr Leu Val
 370 375 380
 Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg Pro Cys Phe
 385 390 395 400
 Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr Asp Asn Cys
 405 410 415
 Ala Ser Val Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu Glu Tyr Glu
 420 425 430
 Glu Ala Pro Arg Pro Gln Pro Pro Ala Cys Leu Ser Glu Asp Ser Thr
 435 440 445
 Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu Asn Val Phe
 450 455 460
 Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe Gly Leu Phe
 465 470 475 480
 Ser Cys Ile Ile Asn Gly Glu Glu Gln Glu Gln Thr His Arg Ala Ile
 485 490 495

Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp
500 505 510

Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala
515 520 525

Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala
530 535 540

Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn
545 550 555 560

Ser Asp Trp Val Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln
565 570 575

Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys
580 585 590

Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser
595 600 605

Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala
610 615 620

Asp Asp Ser Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln
625 630 635 640

Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr
645 650 655

Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His
660 665 670

Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly
675 680 685

Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro
690 695 700

Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
705 710

<210> 105

<211> 2136

5 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> descripción de la secuencia: secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína IB1 humana

5

<400> 105

atggcggagc gagaaagcgg cggcctggga gggggggccg cgtccccgcc cgccgcctcc	60
ccgttccttg ggctgcacat cgcttcgcct cccaatttca ggctcaccca tgacatcagc	120
ctggaggagt ttgaggatga agacctctcg gagatcactg atgagtgtgg catcagctta	180
cagtgc aaaag acaccctgtc cttacggccc ccgcgcgccg ggctgctctc tgcgggcggc	240
ggcggcgccg ggagccgggt gcaggccgag atgctgcaga tggacctgat cgacgcgacg	300
ggggacactc ccggggccga ggacgacgag gaggacgacg acgaggagcg cgcggcccgg	360
cggccgggag cggggccgcc caaggccgag tccggccagg agccggcgct ccgcggccag	420
ggccagagcc aaggccagag ccaggggccc ggacgagggg acacgtaccg gccaagcgg	480
cccaccacgc tcaacctctt tccgcagggt ccgcgggtctc aggcacacact gaataataat	540
tctctgggca aaaagcacag ttggcaggat cgggtgtctc gatcatcctc acccctgaag	600
acaggggagc agacaccacc gcatgaacac atctgcctga gcgatgagct gcccccccag	660
agcggccccg cccccaccac agatcgaggc acctccaccg acagcccttg ccggcgcagc	720
acagccaccc agatggcacc tccgggtggt cccctgctg ccccgccctg gggtcggggc	780
cactcgcacg gagaccgaat ccactaccag gccgatgtgc gactagaggc cactgaggag	840
atctacctga cccagtgca gaggccccca gacgtgacg agcccacctc cgccttcctg	900
ccgcccactg agagccggat gtcagtcagc tccgatccag accctgccgc ctacccctcc	960
acggcagggc ggccgcaccc ctccatcagt gaagaggaag agggcttcga ctgcctgtcg	1020
tccccagagc gggctgagcc cccaggcggg ggggtggcgg ggagcctggg ggagccgccg	1080
ccacctccac gggcctctct gagctcggac accagcgccc tgtcctatga ctctgtcaag	1140
tacacgctgg tggtagatga gcatgcacag ctggagctgg tgagcctgcg gccgtgcttc	1200
ggagactaca gtgacgagag tgactctgcc accgtctatg acaactgtgc ctccgtctcc	1260
tcgccctatg agtcggccat cggagaggaa tatgaggagg ccccgcgccc ccagccccct	1320
gcctgcctct ccgaggactc cacgcctgat gaacccgacg tccatttctc caagaaattc	1380
ctgaacgtct tcatgagtgg ccgctcccgc tcctccagtg ctgagtcctt cgggctgttc	1440
tcctgcatca tcaacgggga ggagcaggag cagaccaccc gggccatatt cagggtttgtg	1500
cctcgacacg aagacgaact tgagctggaa gtggatgacc ctctgctagt ggagctccag	1560
gctgaagact actggtacga ggcctacaac atgcgcactg gtgcccgggg tgtctttcct	1620
gcctattacg ccatcgaggc caccaaggag cccgagcaca tggcagccct ggccaaaaac	1680

agtgactggg tggaccagtt ccgggtgaag ttcctgggct cagtcagggt tccctatcac	1740
aagggaatg acgtcctctg tgctgctatg caaaagattg ccaccacccg ccggctcacc	1800
gtgcacttta acccgccctc cagctgtgtc ctggagatca gcgtgcgggg tgtgaagata	1860
ggcgtcaagg ccgatgactc ccaggaggcc aaggggaata aatgtagcca cttttccag	1920
ttaaaaaaca tctctttctg cggatatcat ccaaagaaca acaagtactt tgggttcac	1980
accaagcacc ccgccacca ccggtttgcc tgccacgtct ttgtgtctga agactccacc	2040
aaagccctgg cagagtccgt ggggagagca ttccagcagt tctacaagca gtttgtggag	2100
tacacctgcc ccacagaaga tatctacctg gagtag	2136

REIVINDICACIONES

1. Utilización de un péptido inhibidor de JNK consistente en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 o de un péptido quimérico consistente en un primer dominio y un segundo dominio unidos mediante un enlace covalente, comprendiendo el primer dominio una secuencia de tráfico y consistiendo el segundo dominio en una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2, donde el primer dominio está unido al extremo C-terminal del segundo dominio, para preparar una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas en un sujeto.
2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada porque el péptido quimérico consiste en la secuencia de aminoácidos correspondiente a la SEQ ID N°: 11.
3. Utilización según la reivindicación 1 o 2, caracterizada porque la composición farmacéutica se administra por una vía de administración seleccionada de entre el grupo consistente en vía parenteral, incluyendo vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica y transdérmica; vías enteral, incluyendo las vías oral y rectal; vía tópica, incluyendo las vías nasal o intranasal; y otras vías, incluyendo la vía epidérmica o la administración en parches.
4. Utilización según la reivindicación 1, 2 o 3, donde las enfermedades inflamatorias crónicas o no crónicas se seleccionan de entre enfermedades del tracto gastrointestinal, incluyendo enfermedades del esófago, el estómago, la primera, segunda y tercera parte del duodeno, el yeyuno, el íleon, el complejo ileocecal, el intestino grueso, del colon ascendente, transversal y descendente, el colon sigmoideo y el recto, enfermedades digestivas inflamatorias crónicas, **caracterizada por** una inflamación del colon, incluyendo colitis seleccionadas entre colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica, colitis colagenosa, colitis indeterminada y colitis atípica.
5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la dosis (por kg de peso corporal) del péptido inhibidor de JNK o del péptido quimérico se sitúa en el intervalo de hasta 10 mmol/kg, preferentemente hasta 1 mmol/kg, de forma especialmente preferente hasta 100 µmol/kg, de forma todavía más preferente hasta 10 µmol/kg, de forma particularmente preferente hasta 1 µmol/kg, de forma más particularmente preferente hasta 100 nmol/kg y de forma totalmente preferente hasta 50 nmol/kg.
6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la dosis del péptido inhibidor de JNK o del péptido quimérico está en el intervalo de aproximadamente 1 pmol/kg a aproximadamente 1 mmol/kg, de aproximadamente 10 pmol/kg a aproximadamente 0,1 mmol/kg, de entre aproximadamente 10 pmol/kg a aproximadamente 0,01 mmol/kg, de entre aproximadamente 50 pmol/kg a aproximadamente 1 µmol/kg, de entre aproximadamente 100 pmol/kg a aproximadamente 500 nmol/kg, de entre aproximadamente 200 pmol/kg a aproximadamente 300 nmol/kg, de entre aproximadamente 300 pmol/kg a aproximadamente 100 nmol/kg, de entre aproximadamente 500 pmol/kg a aproximadamente 50 nmol/kg, de entre aproximadamente 750 pmol/kg a aproximadamente 30 nmol/kg, de entre aproximadamente 250 pmol/kg a aproximadamente 5 nmol/kg, de entre aproximadamente 1 nmol/kg a aproximadamente 10 nmol/kg, o una combinación de dos cualesquiera de estos valores.
7. Péptido inhibidor de JNK consistente en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID N°: 2 o péptido quimérico consistente en un primer dominio y un segundo dominio unidos mediante un enlace covalente, comprendiendo el primer dominio una secuencia de tráfico y consistiendo el segundo dominio en una secuencia inhibidora de JNK de acuerdo con la SEQ ID N°: 2, donde el primer dominio está unido al extremo C-terminal del segundo dominio, para su uso en un método de tratamiento de enfermedades digestivas inflamatorias crónicas o no crónicas en un organismo humano o animal mediante una terapia.
8. Péptido quimérico para su uso según la reivindicación 7, caracterizado porque consiste en la secuencia de aminoácidos correspondiente a la SEQ ID N°: 11.
9. Péptido inhibidor de JNK para su uso según la reivindicación 7 o péptido quimérico para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, caracterizado porque el péptido inhibidor de JNK o el péptido quimérico se administra por una vía de administración seleccionada de entre el grupo consistente en vía parenteral, incluyendo las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica y transdérmica; vía enteral, incluyendo las vías oral y rectal; vía tópica, incluyendo las vías nasal o intranasal; y otras vías, incluyendo la vía epidérmica o la administración en parches.
10. Péptido inhibidor de JNK para su uso según la reivindicación 7 o la reivindicación 9, o péptido quimérico para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, donde las enfermedades inflamatorias crónicas o no crónicas se seleccionan entre enfermedades del tracto gastrointestinal, incluyendo enfermedades del esófago, el estómago, la primera, segunda y tercera parte del duodeno, el yeyuno, el íleon, el complejo ileocecal, el intestino grueso, del colon ascendente, transversal y descendente, el colon sigmoideo y el recto, enfermedades digestivas inflamatorias crónicas, **caracterizado por** una inflamación del colon, incluyendo colitis seleccionadas entre colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, colitis por derivación, colitis isquémica, colitis infecciosa, colitis fulminante, colitis química, colitis microscópica, colitis linfocítica, colitis colagenosa, colitis indeterminada y colitis atípica.

- 5 **11.** Péptido inhibidor de JNK para su uso según la reivindicación 7 o según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, o péptido quimérico para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, caracterizado porque la dosis (por kg de peso corporal) del péptido inhibidor de JNK o del péptido quimérico está en el intervalo de hasta 10 mmol/kg, preferentemente hasta 1 mmol/kg, de forma especialmente preferente hasta 100 μ mol/kg, de forma todavía más preferente hasta 10 μ mol/kg, de forma particularmente preferente hasta 1 μ mol/kg, de forma más particularmente preferente hasta 100 nmol/kg y de forma totalmente preferente hasta 50 nmol/kg.
- 10 **12.** Péptido inhibidor de JNK para su uso según la reivindicación 7 o según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, o péptido quimérico para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, caracterizado porque la dosis del péptido inhibidor de JNK o del péptido quimérico está en el intervalo de aproximadamente 1 pmol/kg a aproximadamente 1 mmol/kg, entre aproximadamente 10 pmol/kg a aproximadamente 0,1 mmol/kg, entre aproximadamente 10 pmol/kg a aproximadamente 0,01 mmol/kg, entre aproximadamente 50 pmol/kg a aproximadamente 1 μ mol/kg, entre aproximadamente 100 pmol/kg a aproximadamente 500 nmol/kg, entre aproximadamente 200 pmol/kg a aproximadamente 300 nmol/kg, entre aproximadamente 300 pmol/kg a aproximadamente 100 nmol/kg, entre aproximadamente 500 pmol/kg a aproximadamente 50 nmol/kg, entre
- 15 aproximadamente 750 pmol/kg a aproximadamente 30 nmol/kg, entre aproximadamente 250 pmol/kg a aproximadamente 5 nmol/kg, entre aproximadamente 1 nmol/kg a aproximadamente 10 nmol/kg, o una combinación de dos cualesquiera de estos valores.

Secuencias de péptidos, humano, ratón y rata

		::	::	::	::
A	IB2	:			IPSPSVEEPHKHRPTTLRL--TTLGAQDS
	IB1	:			PGTGCGDTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT
	c-Jun	:			GAYGSNPKILKQSMTLNLADPVGNLKPH
	ATF2	:			TNEDHLAVHKKHEMTLKFGPARNDSVIV
B	L-IB1(s)	:	:	.	***** *
	L-IB1	:	:	.	***** *
C	L-TAT	:			NH ₂ -GRKKRRQRRR-COOH
	L-TAT-IB1(s)	:			NH ₂ -GRKKRRQRRRP--RPRPTTLNLFQVPRSQD-COOH
	L-TAT-IB1	:			NH ₂ -GRKKRRQRRRPDITYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT-COOH
	D-TAT	:			NH ₂ -RRRQRRKKRG-COOH
	D-TAT-IB1(s)	:			NH ₂ --DQSRPVQPFELNLTTPRKPR---PPRRRQRRKKRG-COOH
	D-TAT-IB1	:			NH ₂ -TDQSRPVQPFELNLTTPRKPRYTDPPRRRQRRKKRG-COOH

Fig. 1

Secuencias genéricas, humano, ratón y rata

Generic Sequences, Human, Mouse and Rat

genérico	
L-generic. ^(genérico) :	NH ₂ -X _n ^b -RKRRQRRR-X _n ^b -COOH
L-TAT-IB ^(genérico) _(s) :	NH ₂ -X _n ^b -RKRRQRRR-X _n ^b -X _n ^a -RPTTLXLXXXXXXXXXD-X _n ^b -COOH
L-TAT-IB ^(generic) :	NH ₂ -XXXXXXXXRRRQRRRXXXXXXXXXXXXRPTTLXLXXXXXXXXXQDS/TX-COOH
genérico	
D-generic. ^(genérico) :	NH ₂ -X _n ^b -RRRQRRKKR-X _n ^b -COOH
D-TAT-IB ^(genérico) :	NH ₂ -X _n ^b -DQXXXXXXXXLXLTTTPR-X _n ^a -X _n ^b -RRRQRRKKR-X _n ^b -COOH
D-TAT-IB ^(generic) :	NH ₂ -XT/SDQXXXXXXXXLXLTTTPRXXXXXXXXXXXXRRRQRRRXXXXXXXXXX-COOH

Fig. 2

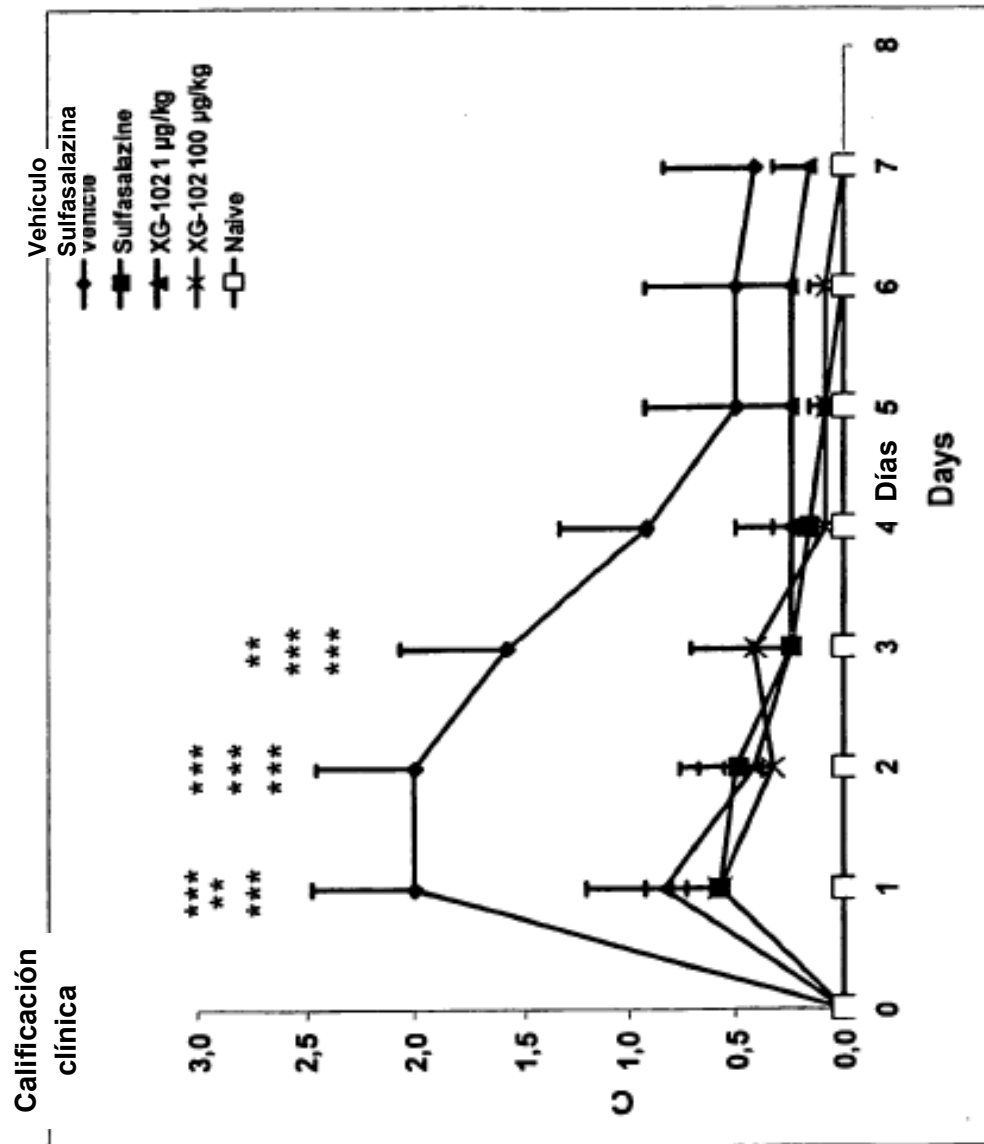


Fig. 3

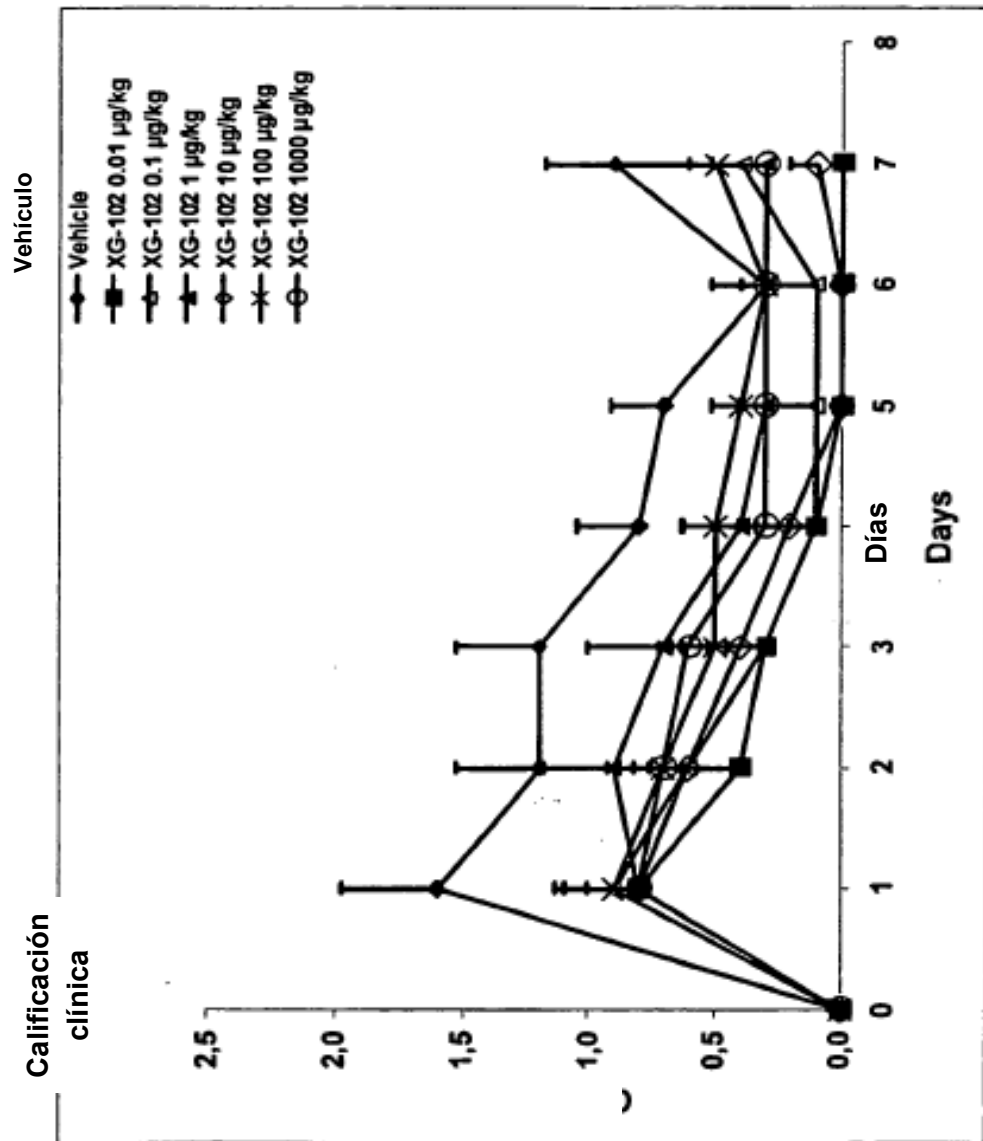


Fig. 4

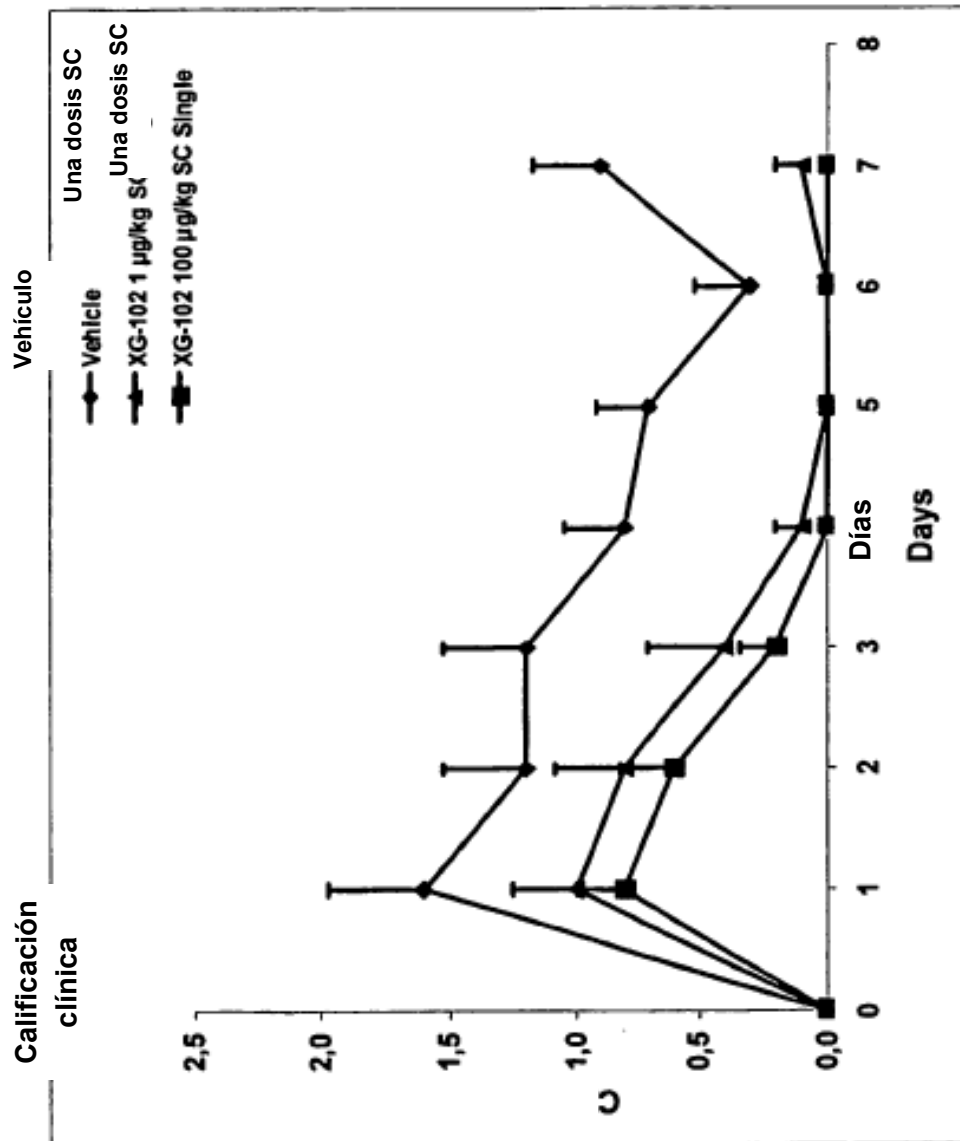


Fig. 5

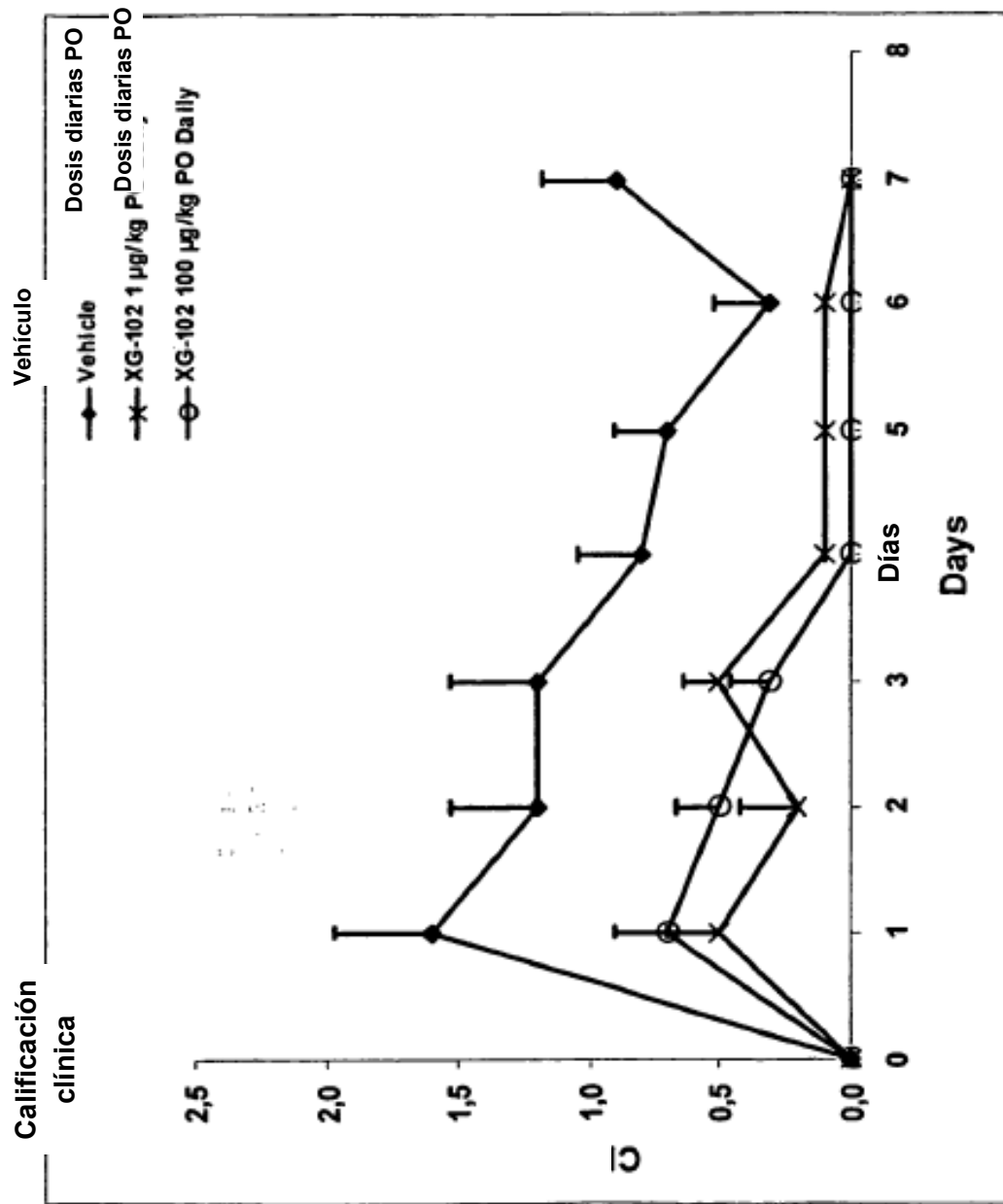


Fig. 6

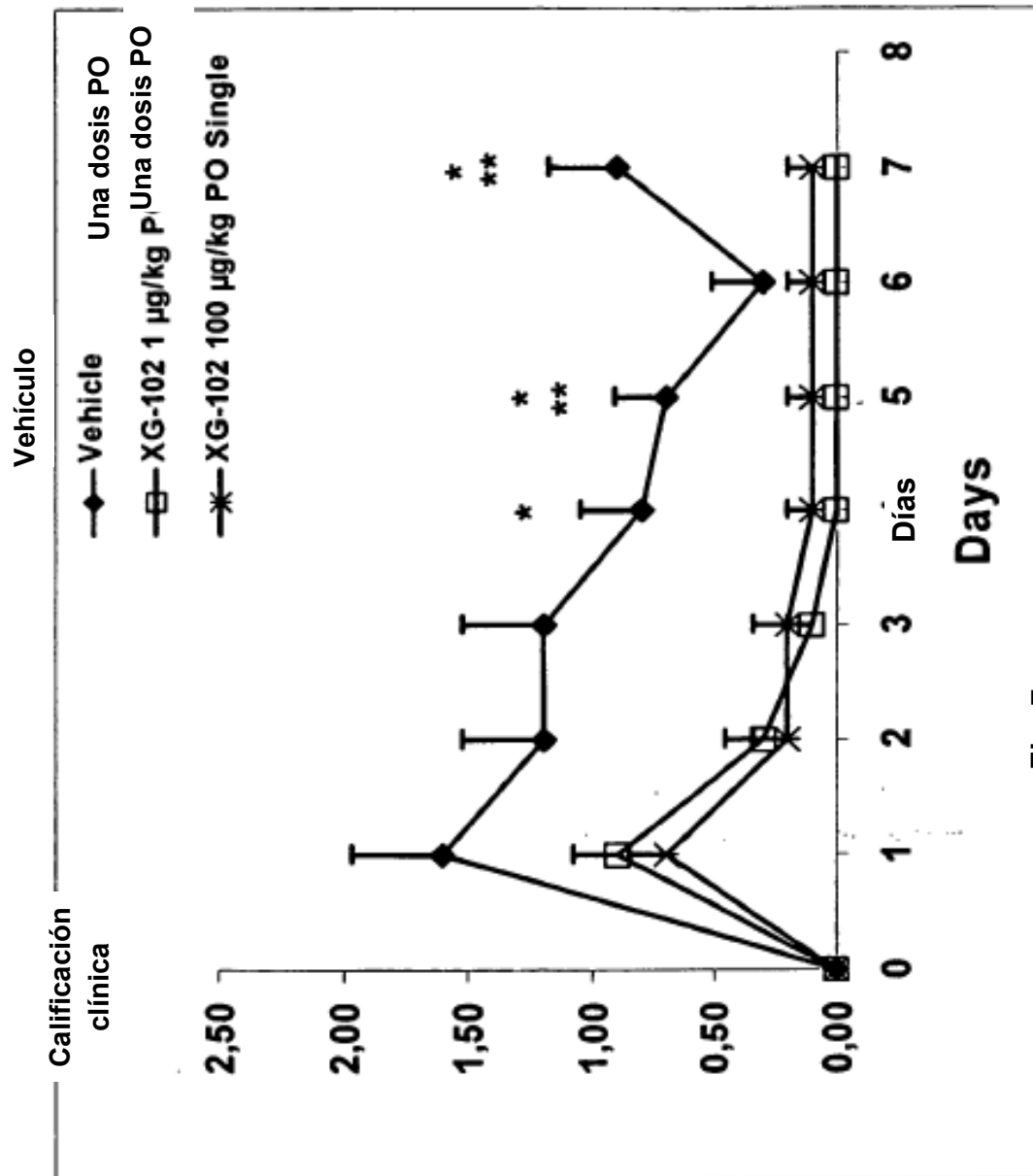


Fig. 7

Macrófago



DMEM Control



XG-102

Fig. 8

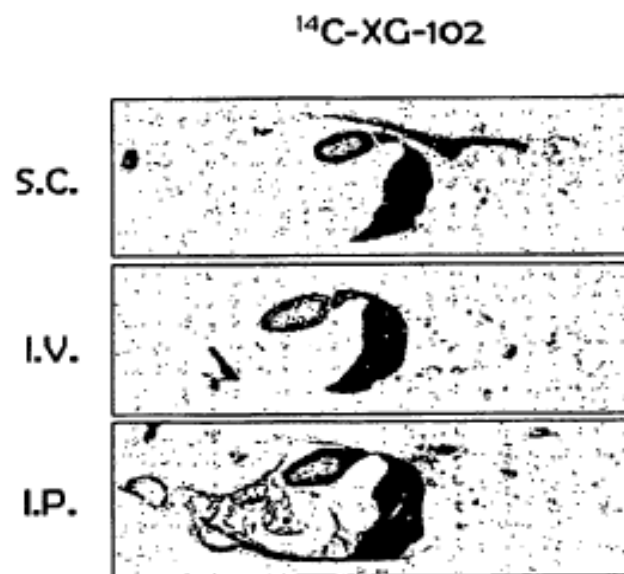


Fig. 9

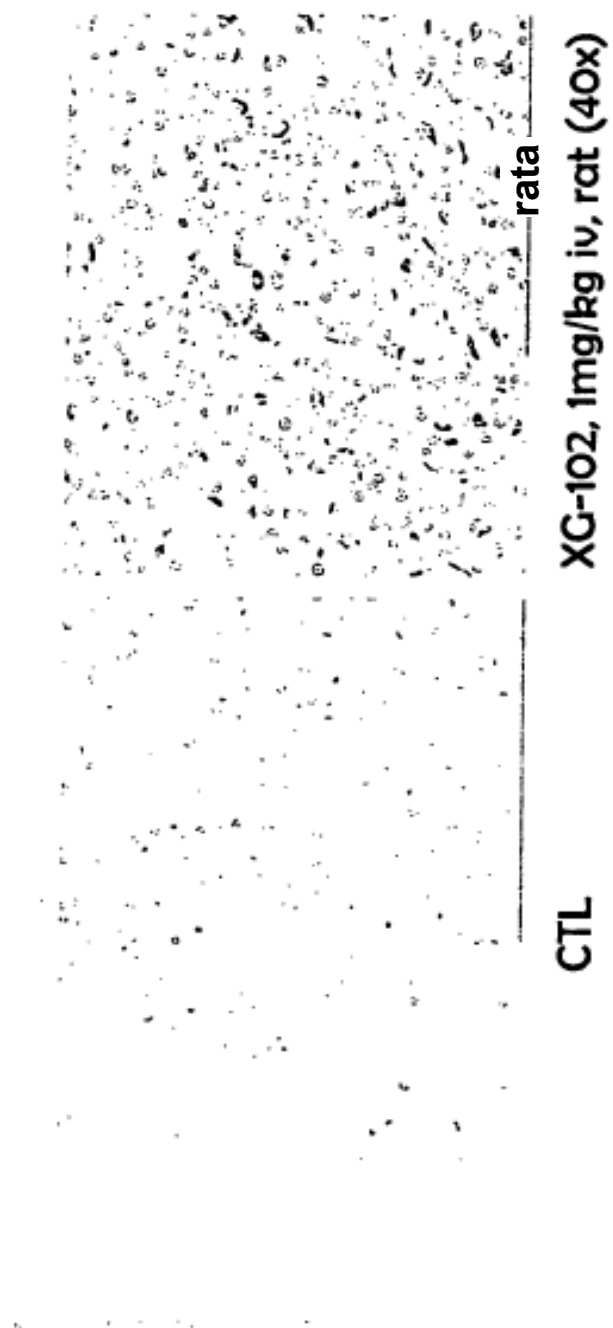


Fig. 10

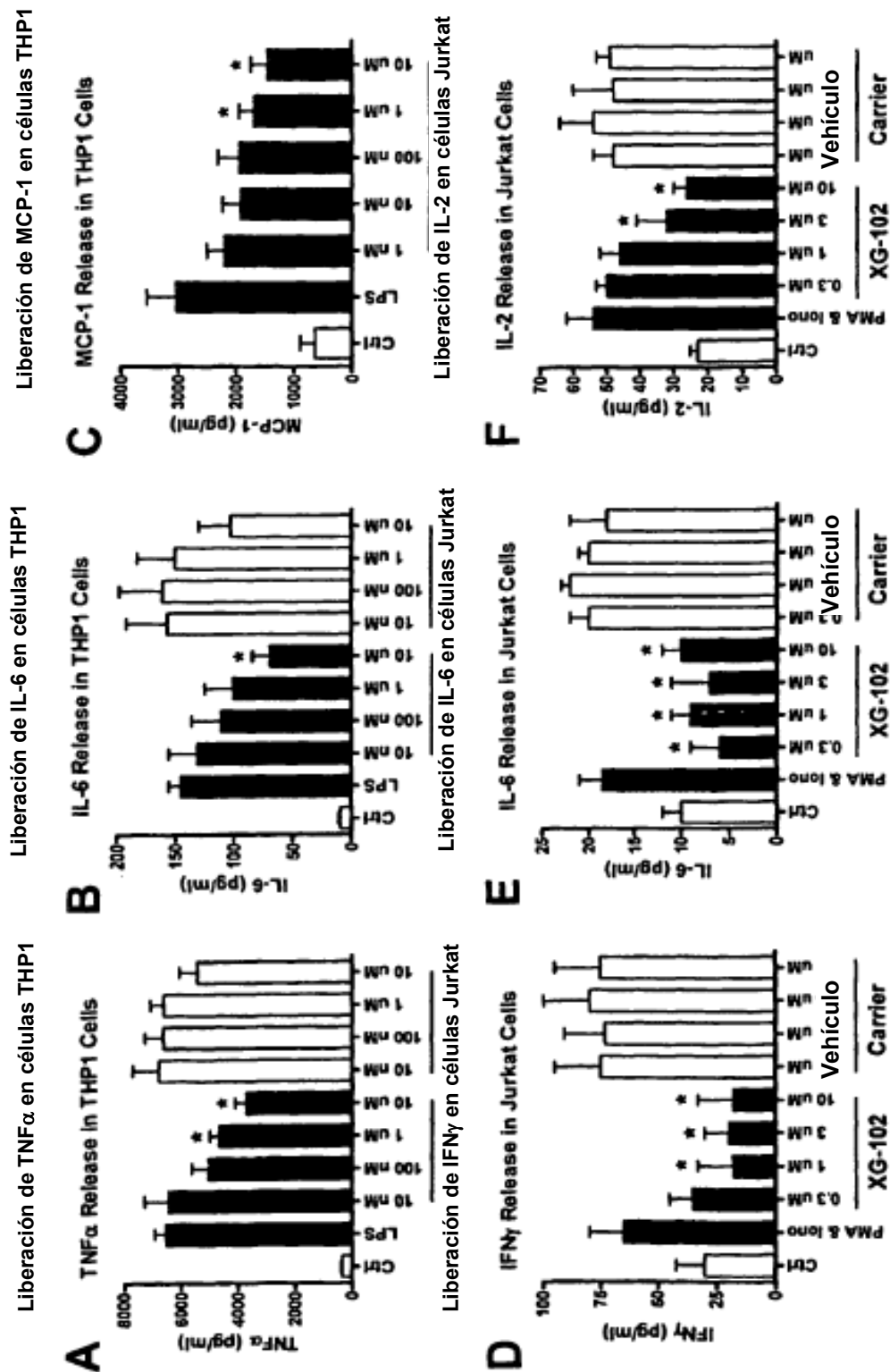


Fig. 11

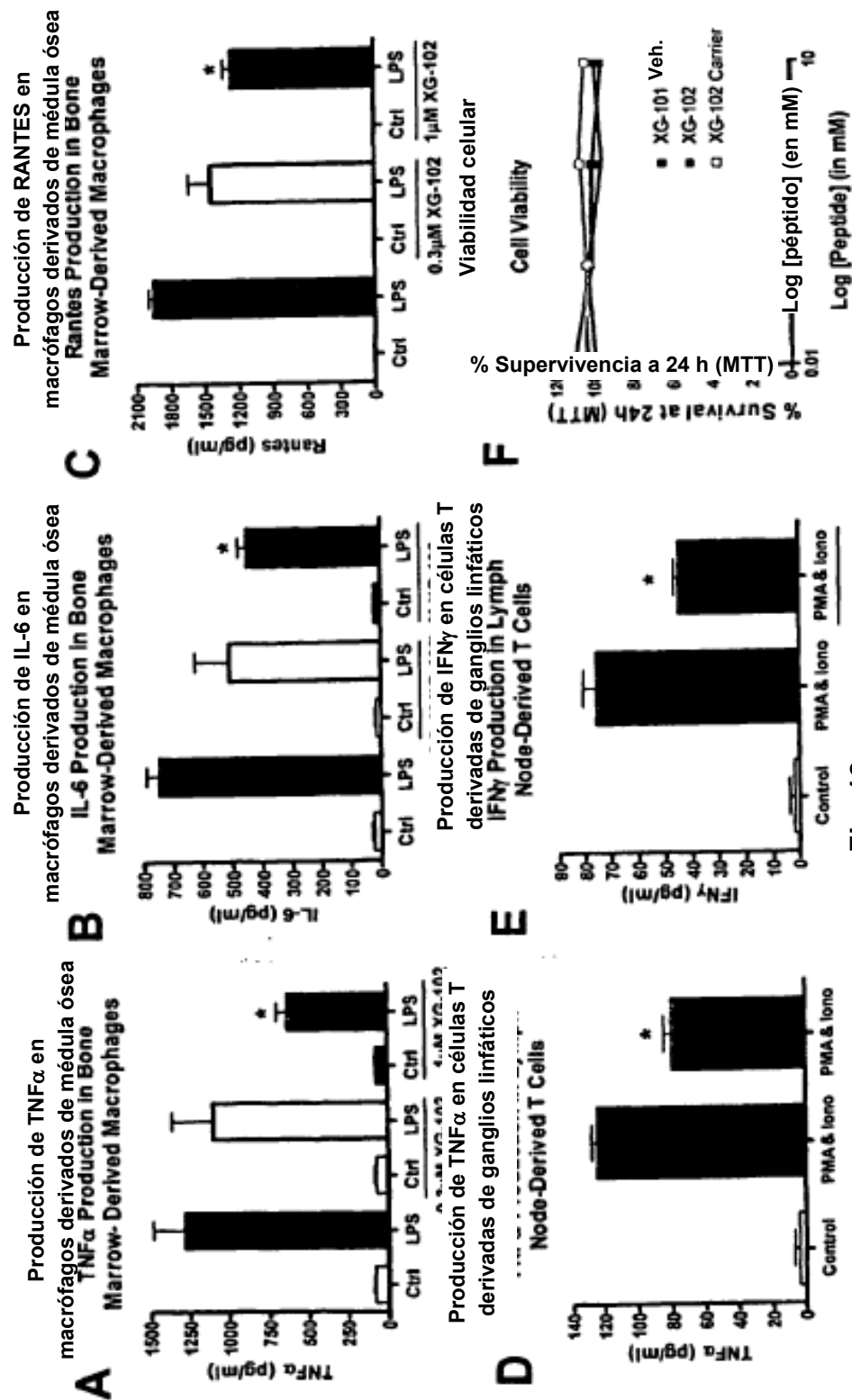


Fig. 12


```

ccgccccagc tcagtccgaa ccccgcgggc gcggtggcct cctccacacg cctccacctc 60
cgccgcccgc gccgcccgcg ccgcctcccg cgtgtctctc cggccggatg gccaggctga 120
gcccgggaat ggcgggagcga gagagcgggc tgagcggggg tgccgcgtcc ccaccggccg 180
cttccccatt cctgggactg cacatcgctg cgctcccaa tttcaggctc acccatgata 240
tcagcctgga ggagtgtgag gatgaagacc ttccggagat cactgatgag tgtggcatca 300
gcctgcagtg caaagacacc ttgtctctcc ggccccgcg cgccgggcta ctgtctgcgg 360
gtagcagcgg tagcgcgggg agccggctgc agcgggagat gctgcagatg gacctgatcg 420
acgcggcaag tgacactccg ggcgccgagg acgacgaaga ggacgacgac gagctcgctg 480
cccaacggcc aggagtgggg ccttccaaag ccgagtctgg ccaggagccg gcgtctcgca 540
gccagggtca gggccagggc cccggcacag gctgcggaga cacctaccgg cccaaggaggc 600
ctaccacgct caaccttttc ccgcagggtg cgcggtctca ggacacgctg aataataact 660
ctttaggcaa aaagcacagt tggcaggacc gtgtgtctcg atcatcctcc cctctgaaga 720
caggggagca gacgcctcca catgaacata tctgcctgag tgatgagctg ccgccccagg 780
gcagtcctgt tcccaccag gatcgtggca cttccaccga cagcccttgt cgccgtactg 840
cagccacca gatggcacct ccaagtggc cccctgccac tgcacctggt ggccggggcc 900
actcccatcg agatcggctc atatcagcag atgtgcggct cgaggcgact gaggagatct 960
acctgacccc agtcgagagg ccccgagacc ctgcagaacc cacctccacc ttcttgccac 1020
ccactgagag ccggatgtct gtcagctcgg atcctgacct tgccgcttac tctgtaactg 1080
cagggcgacc gcaccttcc atcagtgaag aggatgaggg cttcgactgt ctgtcatccc 1140
cagagcaagc tgagccacca ggtggagggg ggcggggaag cctcggggag ccaccaccgc 1200
ctccacgggc ctactgagc tcggacacca gcgactgtc ctacgactct gtcaagtaca 1260
cactggtggt ggatgagcat gccagcttg agttggtgag cctgcggcca tgttttggag 1320
attacagtga cgaaagcgac tctgccactg tctatgaaa ctgtgcctct gcctcctcgc 1380
cctacgagtc agccattggt gaggaatatg aggaggcccc tcaaccccg cctccacct 1440
gcctgtcaga ggactccaca ccgatgagc ctgacgtcca cttctctaag aagtttctga 1500
atgtcttcat gagtggccgc tctcgttctt ccagtgccga gtcctttggg ctgttctctt 1560
gtgtcatcaa tggggaggag catgagcaaa cccatcgggc tatattcagg tttgtgcctc 1620
ggcatgaaga tgaacttgag ctggaagtgg acgacctct gctggtggag ctgcaggcag 1680

```

Fig. 14

aagactattg gtatgaggcc tataacatgc gcactggagc ccgtgggtgc tttcctgcct	1740
actatgccat tgaggtcacc aaggagcctg agcacatggc agcccttgcc aaaaacagcg	1800
actggattga ccagttccgg gtgaagtcc tgggtctgt ccaggttcct taccacaagg	1860
gcaatgatgt cctctgtgct gctatgcaaa agatcgccac caccgcggg ctcaccgtgc	1920
actttaaccc gccctccagc tgtgtccttg aaatcagcgt taggggtggtc aagatagggtg	1980
tcaaagctga tgaagctcag gaggccaagg gaaataaatg tagccacttt ttccagctaa	2040
aaaacatctc tttctgtggg taccatccaa agaacaacaa gtactttggg tttatcacta	2100
agcaccctgc tgaccaccgg ttgacctgcc atgtctttgt gtctgaagat tccaccaaag	2160
ccctggcaga gtctgtgggg cgtgcatttc agcagttcta caagcaattt gtggaatata	2220
cctgtcctac agaagatata tacttggagt agcagcaacc cccctctctg cagccccctca	2280
gccccaggcc agtactagga cagctgactg ctgacaggat gttgtactgc cagagagaa	2340
tgggggagtg agggctgttg gggctggggg gcaggggttt ggggagaggc agatgcagtt	2400
tattgtaata tatgggggta gattaatcta tggaggacag tacaggctct ctgggggctg	2460
gggaagggca gggctggggg ggggtgcagg catctggcca caaaggggtc ccctagggac	2520
agaggcgctg caccatcctg ggcttgtttc atactagagg ccctggcttt ctggctcttg	2580
ggtcctgcct tgacaaagcc cagccacctg gaagtgtcac cttcccttgt ccacctcacc	2640
cagtgccttg agctcatgct gagcccaagc acctccgaag gactttccag taaggaaatg	2700
gcaacatgtg acagtgagac cctgttctca tctgtggggc tccggcagct ccgaccccca	2760
gcctggccag cacgctgacc ctggcaagct tgtgtgttca aagaaggaga gggccacagc	2820
aagccctgcc tgccagggaa ggttccctct cagctggccc cagccaactg gtcactgtct	2880
tgtcacctgg ctactactat taaagtgcc tttcttgtct gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	2940
aaaaaaaaactc gag	2953

Fig. 14 (cont.)

Met Ala Arg Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser
 1 5 10 15
 Gly Gly Ala Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His
 20 25 30
 Ile Ala Ser Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu
 35 40 45
 Glu Phe Glu Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile
 50 55 60
 Ser Leu Gln Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly
 65 70 75 80
 Leu Leu Ser Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala
 85 90 95
 Glu Met Leu Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly
 100 105 110
 Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro
 115 120 125
 Gly Val Gly Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg
 130 135 140
 Ser Gln Gly Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr
 145 150 155 160
 Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
 165 170 175
 Ser Gln Asp Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp
 180 185 190
 Gln Asp Arg Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln
 195 200 205
 Thr Pro Pro His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln
 210 215 220
 Gly Ser Pro Val Pro Thr Gln Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro
 225 230 235 240
 Cys Arg Arg Thr Ala Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Ser Gly Pro Pro
 245 250 255

Fig. 15

Ala Thr Ala Pro Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ser Ile
 260 265 270
 Ser Ala Asp Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro
 275 280 285
 Val Gln Arg Pro Pro Asp Pro Ala Glu Pro Thr Ser Thr Phe Leu Pro
 290 295 300
 Pro Thr Glu Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala
 305 310 315 320
 Tyr Ser Val Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Asp
 325 330 335
 Glu Gly Phe Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Gln Ala Glu Pro Pro Gly
 340 345 350
 Gly Gly Trp Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala
 355 360 365
 Ser Leu Ser Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr
 370 375 380
 Thr Leu Val Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg
 385 390 395 400
 Pro Cys Phe Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr
 405 410 415
 Asp Asn Cys Ala Ser Ala Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu
 420 425 430
 Glu Tyr Glu Glu Ala Pro Gln Pro Arg Pro Pro Thr Cys Leu Ser Glu
 435 440 445
 Asp Ser Thr Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu
 450 455 460
 Asn Val Phe Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe
 465 470 475 480
 Gly Leu Phe Ser Cys Val Ile Asn Gly Glu Glu His Glu Gln Thr His
 485 490 495
 Arg Ala Ile Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu
 500 505 510

Fig. 15 (cont.)

Glu Val Asp Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp
 515 520 525
 Tyr Glu Ala Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala
 530 535 540
 Tyr Tyr Ala Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu
 545 550 555 560
 Ala Lys Asn Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly
 565 570 575
 Ser Val Gln Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala
 580 585 590
 Met Gln Lys Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro
 595 600 605
 Pro Ser Ser Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly
 610 615 620
 Val Lys Ala Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His
 625 630 635 640
 Phe Phe Gln Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn
 645 650 655
 Asn Lys Tyr Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe
 660 665 670
 Ala Cys His Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu
 675 680 685
 Ser Val Gly Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr
 690 695 700
 Thr Cys Pro Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

Fig. 15 (cont.)

Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ala Ala Ser Pro
 1 5 10 15
 Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser Pro Pro Asn
 20 25 30
 Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu Asp Glu Asp
 35 40 45
 Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln Cys Lys Asp
 50 55 60
 Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gly Gly
 65 70 75 80
 Gly Gly Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu Gln Met Asp Leu
 85 90 95
 Ile Asp Ala Thr Gly Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp
 100 105 110
 Asp Asp Glu Glu Arg Ala Ala Arg Arg Pro Gly Ala Gly Pro Pro Lys
 115 120 125
 Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Gly Gln Gly Gln Ser Gln
 130 135 140
 Gly Gln Ser Gln Gly Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg
 145 150 155 160
 Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
 165 170 175
 Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg Val
 180 185 190
 Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro His
 195 200 205
 Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Ser Gly Pro Ala
 210 215 220
 Pro Thr Thr Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro Cys Arg Arg Ser
 225 230 235 240
 Thr Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Gly Gly Pro Pro Ala Ala Pro Pro
 245 250 255

Fig. 16

Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ile His Tyr Gln Ala Asp
 260 265 270
 Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro Val Gln Arg
 275 280 285
 Pro Pro Asp Ala Ala Glu Pro Thr Ser Ala Phe Leu Pro Pro Thr Glu
 290 295 300
 Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala Tyr Pro Ser
 305 310 315 320
 Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Glu Glu Gly Phe
 325 330 335
 Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly Gly Gly Trp
 340 345 350
 Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Arg Ala Ser Leu Ser
 355 360 365
 Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr Thr Leu Val
 370 375 380
 Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg Pro Cys Phe
 385 390 395 400
 Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr Asp Asn Cys
 405 410 415
 Ala Ser Val Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu Glu Tyr Glu
 420 425 430
 Glu Ala Pro Arg Pro Gln Pro Pro Ala Cys Leu Ser Glu Asp Ser Thr
 435 440 445
 Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu Asn Val Phe
 450 455 460
 Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe Gly Leu Phe
 465 470 475 480
 Ser Cys Ile Ile Asn Gly Glu Glu Gln Glu Gln Thr His Arg Ala Ile
 485 490 495
 Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp
 500 505 510

Fig. 16 (cont.)

Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala
 515 520 525
 Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala
 530 535 540
 Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn
 545 550 555 560
 Ser Asp Trp Val Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln
 565 570 575
 Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys
 580 585 590
 Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser
 595 600 605
 Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala
 610 615 620
 Asp Asp Ser Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln
 625 630 635 640
 Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr
 645 650 655
 Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His
 660 665 670
 Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly
 675 680 685
 Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro
 690 695 700
 Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

Fig. 16 (cont.)

atggcggagc gagaaagcgg cggcctggga gggggggcgg cgtccccgcc cggcgctcc	60
ccgttcctgg ggctgcacat cgcttcgcct cccaatttca ggctcaccca tgacatcagc	120
ctggaggagt ttgaggatga agacctctcg gagatcactg atgagtgtgg catcagctta	180
cagtgcaaag acaccctgtc cttacggccc ccgtgcgccg ggctgctctc tgcgggcggc	240
ggcggcgcg ggagccggtt gcaggccgag atgtgcaga tggacctgat cgacgcgacg	300
ggggacactc ccggggccga ggacgacgag gaggacgacg acgaggagcg cgcggcccgg	360
cggccgggag cggggccgcc caaggccgag tccggccagg agccggcgtc ccgcgccag	420
ggccagagcc aaggccagag ccagggcccg ggagcgggg acacgtaccg gcccaagcgg	480
cccaccacgc tcaacctctt tccgcagggt ccgcggtctc aggacacact gaataataat	540
tctctgggca aaaagcacag ttggcaggat cgggtgtctc gatcatctc acccctgaag	600
acaggggagc agacaccacc gcatgaacac atctgcctga gcgatgagct gccccccag	660
agcggccccc cccccaccac agatcgaggc acctccaccg acagcccttg ccgcccagc	720
acagccaccc agatggcacc tccgggtggt cccctgctg ccccgccctg gggtcggggc	780
cactcgcac gagaccgaat ccaactaccg gccgatgtgc gactagaggc cactgaggag	840
atctacctga cccagtgca gaggcccca gacgctgcag agccacctc cgcttctctg	900
ccgcccactg agagccggat gtcagtcagc tccgatccag accctgcgc ctacccctcc	960
acggcagggc ggccgcaccc ctccatcagt gaagaggaag agggcttcga ctgctgtcg	1020
tccccagagc gggctgagcc ccaggcgga ggggtggcgg ggagcctggg ggagccgccg	1080
ccacctccac gggcctctct gagctcggac accagcgccc tgtcctatga ctctgtcaag	1140
tacacgctgg tggtagatga gcatgcacag ctggagctgg tgagcctgcg gccgtgcttc	1200
ggagactaca gtgacgagag tgactctgcc accgtctatg acaactgtgc ctccgtctcc	1260
tcgccctatg agtcggccat cggagaggaa tatgaggagg ccccgcggcc ccagccccct	1320
gcctgcctct ccgaggactc cagcctgat gaaccgacg tccatttctc caagaaattc	1380
ctgaacgtct tcatgagtgg ccgctccccg tcctccagtg ctgagtcctt cgggctgttc	1440
tcctgcatca tcaacgggga ggagcaggag cagaccacc gggccatatt caggtttgtg	1500
cctcgacacg aagacgaact tgagctggaa gtggatgacc ctctgctagt ggagctccag	1560
gctgaagact actggtacga ggctacaac atgcgcactg gtgccccggg tgcctttcct	1620
gcctattacg ccacgcagggt caccaaggag cccgagcaca tggcagccct ggcaaaaac	1680
agtgactggg tggaccagtt ccgggtgaag ttcctgggct cagtccaggt tccctatcac	1740

Fig. 17

aagggcaatg acgtcctctg tgctgctatg caaaagattg ccaccacccg ccggttcacc	1800
gtgcacttta acccgccctc cagctgtgtc ctggagatca gcgtgcgggg tgtgaagata	1860
ggcgtcaagg ccgatgactc ccaggaggcc aaggggaata aatgtagcca cttttccag	1920
ttaaaaaaca tctctttctg cggatatcat ccaaagaaca acaagtactt tgggttcac	1980
accaagcacc ccgccacca ccggtttgcc tgccacgtct ttgtgtctga agactccacc	2040
aaagccctgg cagagtcctg ggggagagca ttccagcagt tctacaagca gtttgtggag	2100
tacacctgcc ccacagaaga tatctacctg gagtag	2136

Fig. 17 (cont.)