

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 551**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/34** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **01988010 .3**  
96 Fecha de presentación: **29.11.2001**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1435999**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.07.2004**

54 Título: **Combinación de dos regiones bioactivas de la hormona pro-opiomelanocortina**

30 Prioridad:  
**18.10.2001 BA 010898**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**27.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**27.11.2012**

73 Titular/es:  
**ADEMOVIC, ZLATKO (50.0%)**  
**TITOVA 17**  
**76290 ODZAK, BA y**  
**MIKUS, DARKO (50.0%)**

72 Inventor/es:  
**ADEMOVIC, ZLATKO;**  
**STAMBUK, NIKOLA;**  
**KONJEVODA, PASKO y**  
**MIKUS, DARKO**

74 Agente/Representante:  
**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 391 551 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Combinación de dos regiones bioactivas de la hormona pro-opiomelanocortina.

## 1) ÁREA TÉCNICA DE LA INVENCIÓN

La invención es una combinación de dos péptidos bioactivos extraídos de la hormona pro-opiomelanocortina, que permite efectos citoprotectores aditivos y modulación de la respuesta inflamatoria y la curación de tejidos/heridas. La combinación de dos péptidos de pro-opiomelanocortina permite mejores efectos farmacológicos y curación de lesiones tisulares.

J.M. Lipton et al (*Immunol. Today* **18** (3) (1997) 140-145) describe las acciones anti-inflamatorias del neuroinmunomodulador  $\alpha$ -MSH. N. P. Protchnikoff et al. (*Clin. Immunol. Immunop.* **82** (2) (1997) 93-101) describe la metionina-enkefalina (met-enkefalina) y sus efectos sobre la función inmune humana.

## 2) PROBLEMA TÉCNICO

Las partes bioactivas de las secuencias de proteínas y genes tienen a menudo una longitud de 5 a 15 aminoácidos y péptidos repetitivos, separados por los bloques mayores de aminoácidos de función indefinida (1-5). Pueden utilizarse análisis por computadora para la extracción de tales motivos y la manipulación subsiguiente con los efectos bioactivos de sus regiones proteínicas (1-5). La invención representa una combinación de dos regiones repetitivas y bioactivas de la hormona pro-opiomelanocortina que exhibe efectos aditivos citoprotectores y farmacológicos.

## 3) DESCRIPCIÓN TÉCNICA

Los motivos peptídicos repetitivos dentro de una proteína simple o una familia de proteínas representan, junto con sus secuencias complementarias coincidentes, regiones que están ligadas a la bioactividad de las estructuras moleculares mayores (1-5).

Las técnicas modernas de programación, el desarrollo de los soportes lógicos y las bases de datos de las estructuras de proteínas y genes han permitido la modelización por computadora de estructuras repetitivas, bioactivas y complementarias de un gran número de proteínas diferentes (1-5). Como consecuencia, la extracción de motivos cortos y repetitivos puede realizarse en un ordenador personal rápida y fácilmente (1-5). Los autores de la invención analizaron péptidos repetitivos y bioactivos de la molécula pro-opiomelanocortina por medio del software SCAN (3-5) a fin de obtener una combinación posible de elementos con efectos farmacológicos y citoprotectores aditivos.

## 4) PROPÓSITO DE LA INVENCIÓN (Descripción de la invención)

El propósito de la invención es obtener efectos citoprotectores farmacológicos aditivos por combinación de dos péptidos repetitivos y bioactivos de la molécula de la hormona pro-opiomelanocortina.

La innovación estriba en el hecho de que, en lugar del cribado farmacológico aleatorio de diferentes motivos de la proteína pro-opiomelanocortina, se utilizó el software SCAN para extraer dos secuencias repetitivas y bioactivas (SYSMEHFRWGKPV e YGGFM). Dos secuencias extraídas están presentes en las moléculas siguientes: precursor de pro-opiomelanocortina, pro-opiomelanocortina, corticotropina, melanotropina, lipotropina beta, proencefalina, preproencefalina, endorfina beta y adrenorfina (Tabla 1).

Los fragmentos de péptidos bioactivos SYSMEHFRWGKPV e YGGFM se testaron individualmente y en combinación, por medio del modelo estándar de citoprotección de las lesiones gástricas inducidas por etanol de 96% en ratas macho Wistar (6,7). En el grupo de control de 8 animales tratados con solución salina fisiológica, el área de lesiones era  $255,5 \pm 78,1 \text{ mm}^2$  (valor medio  $\pm$  desviación estándar, Figura 1) (7). En el grupo de 8 animales tratados con la combinación de péptidos SYSMEHFRWGKPV (1 mg/kg) e YGGFM (10 mg/kg), el área de lesiones gástricas era  $0,3 \pm 0,7 \text{ mm}^2$  ( $p < 0,05$  comparada con los controles, Figura 1) (7). En el grupo de 8 animales tratados con el péptido SYSMEHFRWGKPV (1 mg/kg) el área de lesiones gástricas era  $5,9 \pm 8 \text{ mm}^2$  ( $p < 0,05$  comparado con los controles, Figura 1) (7). En el grupo de 8 animales tratados con el péptido YGGFM (10 mg/kg) el área de las lesiones gástricas era  $139,4 \pm 36,1 \text{ mm}^2$  ( $p < 0,05$  comparado con los controles, Figura 1) (7). La combinación de los péptidos SYSMEHFRWGKPV e YGGFM proporcionó el mejor efecto citoprotector puede utilizarse en medicina como medicamento. Los péptidos, o su combinación, no exhibían efecto irritante alguno sobre la mucosa gástrica normal (7).

## 5) FIGURAS Y TABLAS

La Tabla 1 define la combinación de dos secuencias bioactivas de pro-opiomelanocortina y tres combinaciones de sus formas químicas estructurales.

La Figura 1 define los efectos citoprotectores de los fragmentos peptídicos bioactivos SYSMEHFRWGKPV e YGGFM de la molécula de pro-opiomelanocortina, y su combinación, en el modelo de las lesiones gástricas inducidas por etanol en las ratas.

## 6) DESCRIPCIÓN DE LAS POSIBLES APLICACIONES DE LA INVENCION

Las secuencias bioactivas, y la combinación de sus fórmulas estructurales definidas en la Tabla 1 pueden utilizarse como los péptidos bioactivos para la modulación de la inflamación y curación de las heridas. El propósito de definir las fórmulas estructurales de la invención a partir de las regiones bioactivas de la hormona pro-opiomelanocortina (6-9), es obtener fórmulas estructurales (secuencias) de los fármacos potenciales de una manera rápida y eficiente.

La finalidad de la invención es obtener el fármaco que previene y detiene el deterioro de tejidos y órganos en enfermedades inflamatorias y autoinmunes, así como en traumatismos, infecciones y quemaduras del:

1. tejido conectivo, articulaciones y huesos
2. sistema nervioso central y periférico, nervio óptico, ojo y oído
3. piel, cabello y uñas
4. sistema digestivo, hígado, páncreas, cavidad oral dientes y senos
5. sistema inmune, ganglios linfáticos de la médula ósea y bazo
6. sistema cardiovascular
7. sistema respiratorio
8. sistema reproductivo

## 6) APLICACIONES INDUSTRIALES DE LA INVENCION

Las secuencias bioactivas de la pro-opiomelanocortina, como se definen por la invención, pueden aplicarse por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal e intravenosa. Aplicaciones tópicas incluyen ungüentos, cremas, geles, supositorios, supositorios vaginales, gotas oftálmicas y gotas para los oídos.

## 20 REFERENCIAS

1. L. Baranyi, W. Campbell, K. Ohshima et al., *Nature Medicine* **1** (1995) 894-901.
2. J. E. Blalock, *Nature Medicine*, **1**(1995) 876-878.
3. N. Štambuk, *On the Optimization of Complementary Protein Coding*, in: S. Ohno, K. Aoki, M. Usui, E. Uchio (Eds.), *Uveitis Today*, Elsevier, Amsterdam, 1998, pp 315-318.
4. N. Štambuk and P. Konjevoda, *Period. Biol.* **101** (1999) 363-368.
5. N. Štambuk, N. Gotovac, M. Martinis et al. Simple Three-step Method for the Analysis and Design of Repetitive and Bioactive protein Motifs, in: V. B. Bajić (Ed.), *Advances in Systems Signals Control and Computers vol. II*, IAAMSAD, and ANS, Durban, 1998, pp 310-311.
6. P. Konjevoda, N. Štambuk, D. Vikić-Topić et al. *Croat. Chem. Acta* **73** (2000) 1111-1121.
7. P. Konjevoda, N. Štambuk, G. Aralica and B. Pokrić, *J. Physiol.- Paris* **95** (1-6)(2001) 277-281.
8. J. M. Lipton and A. Catania, *Immunol. Today* **18** (1997) 140-145.
9. N. Štambuk, N. Kopjar, K. Šentija, et al. *Croat. Chem. Acta* **71** (1998) 591-605.

## TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. La combinación de dos motivos proteínicos bioactivos y repetitivos (péptido YGGFM y péptido SYSMEHFRWGKPV) se determinó por ordenador por medio del software SCAN (3-5) a partir de las moléculas del precursor de pro-opiomelanocortina y pro-opiomelanocortina. El péptido repetitivo YGGFM está presente también en las moléculas de preproencefalina, proencefalina, lipotropina beta, endorfina beta y adrenorfina (a). El péptido SYSMEHFRWGKPV está presente adicionalmente en las moléculas de melanotropina y corticotropina (b).

La combinación de los péptidos bioactivos YGGFM y SYSMEHFRWGKPV de la molécula pro-opiomelanocortina se describe en esta memoria.

Otra combinación de dos secuencias de ambos péptidos se describe en esta memoria por las fórmulas estructurales:

YGGFMSYSMEHFRWGKPVYGGFM,

5 YGGFMSYSMEHFRWGKPV,

SYSMEHFRWGKPVYGGFM.

(a)

No.	Secuencia YGGFM	Residuo
1	Adrenorfina	1-5
2	Endorfina beta	1-5
3	Preproencefalina	54-58, 61-65, 90-94, 140-144, 164-168, 215-219
4	Proencefalina	100-104, 107-111, 136-140, 186-190, 210-214, 261-265
5	Lipotropina beta	59-63, 61-65
6	Precursor de pro-opiomelanocortina	232-236
7	Pro-opiomelanocortina	3-7, 237-241

(b)

No.	Secuencia SYSMEHFRWGKPV	Residuo
1	Melanotropina	1-13
2	Corticotropina	1-13
3	Precursor de pro-opiomelanocortina	133-145
4	Pro-opiomelanocortina	138-150

10 Figura 1. Efectos citoprotectores de los fragmentos peptídicos bioactivos SYSMEHFRWGKPV e YGGFM de la molécula pro-opiomelanocortina en el modelo de la rata de las lesiones gástricas inducidas por etanol. La combinación de secuencias SYSMEHFRWGKPV + YGGFM exhibe efectos citoprotectores más intensos que las secuencias peptídicas individuales.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Ademovic, Zlatko et al.

<120> Efectos Citoprotectores Aditivos de Dos Regiones Bioactivas de la Hormona Pro-opiomelanocortina

<140> PCT/BA 01/00005

5 <141> 2001-11-29

<160> 5

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

<211> 13

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia artificial de aminoácidos con una laguna, numerada como una pluralidad (combinación) de dos secuencias separadas especificadas con identificadores de secuencia separados 1 y 2 (o viceversa).

15

La combinación (pluralidad) de los identificadores de secuencia 1 y 2

hace posible efectos citoprotectores y farmacológicos mejores y más fuertes

que los obtenidos por medio de los identificadores de secuencia de los aminoácidos individuales.

20 <400> 1

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val

1                      5                      10

<210> 2

<211> 5

25 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia artificial de aminoácidos con una laguna, numerada como una pluralidad (combinación) de dos secuencias separadas especificadas con identificadores de secuencia separados 1 y 2 (o viceversa).

30

La combinación (pluralidad) de los identificadores de secuencia 1 y 2

hace posible efectos citoprotectores y farmacológicos mejores y más fuertes

que los obtenidos por medio de los identificadores de secuencia de los aminoácidos individuales.

35 <400> 2

Tyr Gly Gly Phe Met

1                    5  
 <210> 3  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos diseñada que está constituida por dos segmentos  
       no contiguos de una secuencia mayor o por segmentos de diferentes secuencias  
       numerados como una secuencia separada, con un identificador de secuencia  
 10       separado (SEQ ID NO:3).  
 <400> 3  
 Tyr Gly Gly Phe Met Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys  
 1                    5                    10                    15  
 Pro Val Tyr Gly Gly Phe Met  
 15                    20  
 <210> 4  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 20 <220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos diseñada que está constituida por dos segmentos  
       no contiguos de una secuencia mayor o por segmentos de diferentes secuencias  
       numerados como una secuencia separada, con un identificador de secuencia  
       separado (SEQ ID NO:4).  
 25 <400> 4  
 Tyr Gly Gly Phe Met Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys  
 1                    5                    10                    15  
 Pro Val  
 <210> 5  
 30 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Secuencia de aminoácidos diseñada que está constituida por dos  
 35       segmentos no contiguos de una secuencia mayor o por segmentos  
       de diferentes secuencias numerados como una secuencia separada, con un identificador  
       de secuencia separado (SEQ ID NO:5).

# ES 2 391 551 T3

<400> 5

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val Tyr Gly Gly

1                    5                    10                    15  
Phe Met

5 000

**REIVINDICACIONES**

1. Una combinación de dos secuencias peptídicas bioactivas y repetitivas de pro-opiomelanocortina para uso en medicina, siendo dichas secuencias SYSMEHFRWGKPV e YGGFM, en la cual la combinación es SYSMEHFRWGKPV e YGGFM, o se selecciona de YGGFMSYSMEHFRWGKPVYGGFM, YGGFMSYSMEHFRWGKPV o SYSMEHFRWGKPVYGGFM.
2. Una combinación de dos secuencias peptídicas bioactivas y repetitivas de pro-opiomelanocortina de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual la combinación consiste en dos péptidos diferentes SYSMEHFRWGKPV e YGGFM.
3. Una combinación de dos secuencias peptídicas bioactivas y repetitivas de pro-opiomelanocortina de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual la secuencia peptídica es YGGFMSYSMEHFRWGKPVYGGFM.
4. Una combinación de dos secuencias peptídicas bioactivas y repetitivas de pro-opiomelanocortina de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual la secuencia peptídica es YGGFMSYSMEHFRWGKPV.
5. Una combinación de dos secuencias peptídicas bioactivas y repetitivas de pro-opiomelanocortina de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual la secuencia peptídica es SYSMEHFRWGKPVYGGFM.

