

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 476 842**

51 Int. Cl.:

C07K 14/00 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2007** **E 07836118 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2014** **EP 2155228**

54 Título: **Inhibidores polipeptídicos de HSP27 quinasa y usos de los mismos**

30 Prioridad:

10.01.2007 US 880137 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.07.2014

73 Titular/es:

**PURDUE RESEARCH FOUNDATION (100.0%)
1281 Win Henschel Boulevard
West Lafayette, IN 47906, US**

72 Inventor/es:

**PANITCH, ALYSSA;
SEAL, BRANDON y
WARD, BRIAN**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 476 842 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

Inhibidores polipeptídicos de HSP27 quinasa y usos de los mismos

5 Declaración de Financiación del Gobierno

El Gobierno de Estados Unidos a través del Instituto Nacional de Salud ha proporcionado ayuda financiera para este proyecto según la subvención de NIH/NHLBI número R01 HL58027. Por lo tanto, el Gobierno de Estados Unidos puede poseer ciertos derechos con respecto a la presente invención

10

Campo de la invención

La invención está en el campo de la biología celular y molecular, polipéptidos, descubrimiento de fármacos y métodos terapéuticos de uso.

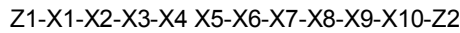
15

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos YARAAARQARAKALARQLGVAA, así como dispositivos biomédicos y composiciones que lo comprenden.

20

La presente divulgación incluye un polipéptido que comprende o consiste en una secuencia de acuerdo con fórmula general I:



25

- donde Z1 y Z2 están de forma independiente ausentes o son dominios de transducción;
 X1 se selecciona del grupo que consiste en KA, KKA y KKKa, o está ausente;
 X2 se selecciona del grupo que consiste en G, L, A, V, I, M, Y, W y F, o es un aminoácido alifático;
 X3 se selecciona del grupo que consiste en V, L, I, A, G, Q, N, S, T y C, o es un aminoácido alifático;
 X4 se selecciona del grupo que consiste en Q, N, H, R y K;
 X5 se selecciona del grupo que consiste en Q y N;
 X6 se selecciona del grupo que consiste en C, A, G, L, V, I, M, Y, W y F o es un aminoácido alifático;
 X7 se selecciona del grupo que consiste en S, A, C, T y G o es un aminoácido alifático;
 X8 se selecciona del grupo que consiste en V, L, I y M;
 X9 está ausente o es cualquier aminoácido; y
 X10 está ausente o es cualquier aminoácido;

30

35

donde al menos una de las siguientes es cierta:

40

- (a) X3 es N y X6 no es G;
- (b) X6 es G y X3 no es N;
- (c) X2 no es L;
- (d) X4 no es R;
- (e) X5 no es Q;
- (f) X6 no es L;
- (g) X8 no es V;
- (h) X10 está ausente; o
- (i) X9 y X10 están ausentes; y

45

50

donde cuando X1 está ausente, entonces Z1 es un dominio de transducción que termina en KA.

En diversas divulgaciones adicionales X4 es R; X5 es Q y/o X8 es V. En diversas divulgaciones adicionales, X3 se selecciona del grupo que consiste en A, G, Q y N.

55

En una divulgación, al menos uno de Z1 y Z2 es un dominio de transducción.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones, que comprenden el polipéptido YARAAARQARAKALARQLGVAA de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

60

La presente divulgación incluye secuencias de ácido nucleico aisladas que codifican un polipéptido de la presente invención. En divulgaciones adicionales, la presente solicitud divulga vectores de expresión recombinantes que comprenden las secuencias de ácido nucleico divulgadas, y células hospedadoras transfectadas con los vectores de expresión recombinantes.

65

En otro aspecto, la invención proporciona dispositivos biomédicos, donde los dispositivos biomédicos comprenden el polipéptido YARAAARQARAKALARQLGVAA de la presente invención dispuesto en o sobre el dispositivo biomédico.

En diversas realizaciones, dichos dispositivos biomédicos incluyen endoprótesis vasculares, injertos, shunts, injertos de endoprótesis vasculares, dispositivos de angioplastia, catéteres de globo, fístulas, apósitos y cualquier dispositivo de suministro farmacológico implantable.

5 También se divulgan métodos para uno o más de los siguientes usos terapéuticos

(a) reducir la proliferación y/o migración de células del músculo liso; (b) promover la relajación del músculo liso; (c) aumentar la frecuencia contráctil del músculo cardiaco; (d) aumentar la frecuencia de relajación del músculo cardiaco; (e) promover la curación de heridas; (f) tratar y/o reducir los trastornos fibróticos y/o queloides; (g) 10 reducir la formación de cicatrices; (h) alterar las adhesiones focales; (i) regular la polimerización de actina; y (j) tratar o reducir la incidencia de uno o más de hiperplasia de la íntima, estenosis, reestenosis, aterosclerosis, tumores y metástasis de células del músculo liso, espasmo del músculo liso, angina, angina de Prinzmetal (vasoespasma coronario), isquemia, ictus, bradicardia, hipertensión, hipertrofia cardiaca y otros daños de 15 órganos finales asociados con la hipertensión (incluyendo pero sin limitación insuficiencia renal e ictus), hipertensión pulmonar (de pulmón), asma (broncoespasmo), toxemia del embarazo, parto prematuro, preeclampsia/eclampsia, enfermedad o fenómeno de Raynaud, uremia hemolítica, isquemia mesentérica no oclusiva, fisura anal, acalasia, impotencia, migraña, lesión muscular isquémica asociada con espasmo del músculo liso, vasculopatía, tal como vasculopatía de trasplante; bradiarritmia, bradicardia, insuficiencia cardiaca congestiva, miocardio aturdido, hipertensión pulmonar, disfunción diastólica, gliosis; enfermedad pulmonar 20 obstructiva crónica, osteopenia, disfunción endotelial, e inflamación; donde el método comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz para llevar a cabo el o los usos terapéuticos de uno o más polipéptidos o composiciones divulgados o de la invención, o equivalentes funcionales de los mismos.

25 Descripción detallada de la invención

Dentro de la presente solicitud, a no ser que se indique de otro modo, las técnicas utilizadas pueden encontrarse en cualquiera de varias referencias bien conocidas tales como: Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook, *et al.*, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press), Gene Expression Technology (Methods in Enzymology, Vol. 185, editado por D. Goeddel, 1991. Academic Press, San Diego, CA), "Guide to Protein Purification" en Methods in 30 Enzymology (M.P. Deutscher, ed., (1990) Academic Press, Inc.); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, *et al.* 1990. Academic Press, San Diego, CA), Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 2ª Ed. (R.I. Freshney. 1987. Liss, Inc. Nueva York, NY), y Gene Transfer and Expression Protocols, pp. 109-128, ed. E.J. Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.

35 Se usa predominantemente en el presente documento la designación de una única letra para aminoácidos. Como se conoce bien por un experto en la materia, dichas designaciones de una única letra son las siguientes:

A es alanina; C es cisteína; D es ácido aspártico; E es ácido glutámico; F es fenilalanina; G es glicina; H es histidina; I es isoleucina; K es lisina; L es leucina; M es metionina; N es asparagina; P es prolina; Q es glutamina; R es 40 arginina; S es serina; T es treonina; V es valina; W es triptófano; e Y es tirosina.

Como se usa en el presente documento, las formas singulares "un" y "el" incluyen referentes plurales a no ser que el contexto claramente dicte otra cosa. Por ejemplo, la referencia a un "polipéptido" significa uno o más polipéptidos.

45 La presente invención proporciona un polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos YARAAARQARAKALARQLGVAA, así como dispositivos biomédicos y composiciones que los comprenden.

La presente divulgación incluye un polipéptido que comprende o consiste en una secuencia de acuerdo con fórmula general I:

50

Z1-X1-X2-X3-X4 X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2

donde Z1 y Z2 están de forma independiente ausentes o son dominios de transducción;

55 X1 se selecciona del grupo que consiste en KA, KKA y KKA, o está ausente;

X2 se selecciona del grupo que consiste en G, L, A, V, I, M, Y, W y F, o es un aminoácido alifático;

X3 se selecciona del grupo que consiste en V, L, I, A, G, Q, N, S, T y C, o es un aminoácido alifático;

X4 se selecciona del grupo que consiste en Q, N, H, R y K;

X5 se selecciona del grupo que consiste en Q y N;

X6 se selecciona del grupo que consiste en C, A, G, L, V, I, M, Y, W y F o es un aminoácido alifático;

60 X7 se selecciona del grupo que consiste en S, A, C, T y G o es un aminoácido alifático;

X8 se selecciona del grupo que consiste en V, L, I y M;

X9 está ausente o es cualquier aminoácido; y

X10 está ausente o es cualquier aminoácido;

65 donde al menos una de las siguientes es cierta:

- (a) X3 es N y X6 no es G;
- (b) X6 es G y X3 no es N;
- (c) X2 no es L;
- (d) X4 no es R;
- (e) X5 no es Q;
- (f) X6 no es L;
- (g) X8 no es V;
- (h) X10 está ausente; o
- (i) X9 y X10 están ausentes; y

donde cuando X1 está ausente, entonces Z1 es un dominio de transducción que termina en KA.

Además de los aminoácidos enumerados, X2, X3, X6 y X7 puede ser cualquier aminoácido alifático (bien de origen natural o bien no), incluyendo pero sin limitación beta-alanina y ácido 2-aminociclohexano-1-carboxílico.

En diversas divulgaciones adicionales X4 es R; X5 es Q y/o X8 es V. En diversas divulgaciones adicionales, X3 se selecciona del grupo que consiste en V. L. L. A, G, Q y N. En divulgaciones adicionales, X6 se selecciona del grupo que consiste en C, A, G, L, V, I, M, Y, W y F. En diversas divulgaciones adicionales, X7 se selecciona del grupo que consiste en S, A, C, T y G.

En una divulgación, al menos uno de Z1 y Z2 es un dominio de transducción.

Por lo tanto, de acuerdo con estas diversas divulgaciones, los polipéptidos de acuerdo con fórmula general I incluyen, pero sin limitación, los siguientes:

Z1-X1-X2-X3-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-X1-X2-X3-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-X3-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-X1-X2-A-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-X4 X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-X1-X2-A-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-A-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-X1-X2-G-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

	Z1-X1-X2-G-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-G-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-G-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
5	Z1-X1-X2-G-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-G-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-G-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-G-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-G-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
10	Z1-X1-X2-Q-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
15	Z1-X1-X2-Q-X4-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
20	Z1-X1-X2-Q-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
25	Z1-X1-X2-Q-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-Q-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
30	Z1-X1-X2-N-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
35	Z1-X1-X2-N-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
40	Z1-X1-X2-N-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-X1-X2-N-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
45	Z1-KKKA-X2-X3-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
50	Z1-KKKA-X2-X3-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-X3-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
55	Z1-KKKA-X2-A-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
60	Z1-KKKA-X2-A-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
65	Z1-KKKA-X2-A-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
	Z1-KKKA-X2-A-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-KKKA-X2-A-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-A-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-A-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-A-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
5 Z1-KKKA-X2-A-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-A-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
10 Z1-KKKA-X2-G-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
15 Z1-KKKA-X2-G-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
20 Z1-KKKA-X2-G-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-G-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
25 Z1-KKKA-X2-Q-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
30 Z1-KKKA-X2-Q-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
35 Z1-KKKA-X2-Q-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
40 Z1-KKKA-X2-Q-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-Q-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-KKKA-X2-N-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
45 Z1-KKKA-X2-N-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
50 Z1-KKKA-X2-N-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KKKA-X2-N-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
55
Z1-KA-X2-X3-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-X3-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2

Z1-KA-X2-X3-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
60 Z1-KA-X2-X3-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-X3-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-X3-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-KA-X2-X3-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
65 Z1-KA-X2-X3-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-X3-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-KA-X2-X3-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-X3-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
5 Z1-KA-X2-A-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
10 Z1-KA-X2-A-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
15 Z1-KA-X2-A-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-K-Q-X7-V-X9-X10-Z2
20 Z1-KA-X2-A-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-A-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
25 Z1-KA-X2-G-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
30 Z1-KA-X2-G-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
35 Z1-KA-X2-G-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-G-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
40 Z1-KA-X2-Q-R-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-X4-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-X4X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
45 Z1-KA-X2-Q-R-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-R-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-R-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
50 Z1-KA-X2-Q-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-X4-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-K-Q-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2
55 Z1-KA-X2-Q-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-Q-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-KA-X2-N-K-X5-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-N-X4-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
60 Z1-KA-X2-N-R-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-N-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-N-R-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-N-X4-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

65 Z1-KA-X2-N-K-Q-X6-X7-X3-X9-X10-Z2
Z1-KA-X2-N-K-X5-X6-X7-V-X9-X10-Z2

Z1-KA-X2-N-K-Q-X6-X7-V-X9-X10-Z2
 Z1-KA-X2-N-K-N-X6-X7-X8-X9-X10-Z2
 Z1-KA-X2-N-K-N-X6-X7-V-X9-X10-Z2

- 5 El polipéptido YARAAARQARAKALARQLGVAA de la presente invención es útil, por ejemplo, como un inhibidor de HSP27 quinasa, que puede usarse como un agente terapéutico para una diversidad de trastornos, como se divulga en más detalle posteriormente. Hayess *et al.* (1997, Biochem. Pharmacol. 53: 1239-1247) describen el inhibidor de MAPKAP-K2 KKKALNRQLGVAA.
- 10 El término "polipéptido" se usa en un sentido más amplio para hacer referencia a una secuencia de aminoácidos subunitarios, análogos de aminoácidos o peptidomiméticos. Las subunidades se unen por enlaces peptídicos, excepto donde se indique. Los polipéptidos descritos en el presente documento pueden sintetizarse químicamente o expresarse de forma recombinante.
- 15 Preferentemente, los polipéptidos de la invención o divulgados se sintetizan de forma química. Los polipéptidos sintéticos, preparados usando las técnicas bien conocidas de fase sólida, fase líquida o técnicas de condensación de péptidos, o cualquier combinación de las mismas, pueden incluir aminoácidos naturales y no naturales. Los aminoácidos usados para síntesis peptídica pueden ser resina de aminoácidos de Boc convencional (N α -*t*-butiloxycarbonilo protegido por N α -amino) con los protocolos convencionales de desprotección, neutralización, acoplamiento y lavado del procedimiento de fase sólida original de Merrifield (1963, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-2154), o los aminoácidos de 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc) protegidos por N α -amino lábiles por bases descritos en primer lugar por Carpino y Han (1972, J. Org. Chem. 37: 3403-3409). Pueden obtenerse aminoácidos protegidos por N α -amino tanto Fmoc como Boc de Sigma, Cambridge Research Biochemical, u otras compañías químicas con las que están familiarizados los expertos en la materia. Además, el polipéptido puede sintetizarse con otros grupos protectores de N α con los que están familiarizados los expertos en la materia.

Puede conseguirse síntesis peptídica de fase sólida por técnicas con las que están familiarizados los expertos en la materia y proporcionadas, por ejemplo, en Stewart y Young, 1984, Solid Phase Synthesis, Segunda Edición, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.; Fields y Noble, 1990, Int. J. Pept. Protein Res. 35: 161-214, o usando sintetizadores automáticos. Los polipéptidos de la invención pueden comprender aminoácidos D (que son resistentes a proteasas específicas de aminoácidos L *in vivo*), una combinación de aminoácidos D y L, y diversos aminoácidos de "diseño" (por ejemplo, aminoácidos β -metilo, aminoácidos C α -metilo y aminoácidos N α -metilo, etc.) para transmitir propiedades especiales. Los aminoácidos sintéticos incluyen ornitina para lisina, y norleucina para leucina o isoleucina.

35 Además, los polipéptidos pueden tener enlaces peptidomiméticos, tales como enlaces ésteres, para preparar péptidos con propiedades nuevas. Por ejemplo, puede generarse un péptido que incorpora un enlace peptídico reducido, es decir, R₁-CH₂-NHR₂, donde R₁ y R₂ son restos o secuencias de aminoácidos. Puede introducirse un enlace peptídico reducido como una subunidad dipeptídica. Dicho polipéptido sería resistente a actividad proteasa, y poseería una semivida *in vivo* prolongada.

40 En una divulgación, al menos uno de Z1 y Z2 es un dominio de transducción. Como se usa en el presente documento, la expresión "dominio de transducción" significa una o más secuencias de aminoácidos o cualquier otra molécula que puede transportar el dominio activo a través membranas celulares. Estos dominios pueden unirse con otros polipéptidos para dirigir el movimiento de polipéptido unido a través de membranas celulares. En algunos casos, no es necesario que las moléculas de transducción estén unidas covalentemente con el polipéptido activo. En una realización preferida, el dominio de transducción se une con el resto del polipéptido mediante enlace peptídico. (Véase, por ejemplo, Cell 55: 1179-1188, 1988; Cell 55: 1189-1193, 1988; Proc Natl Acad Sci US A 91: 664-668, 1994; Science 285: 1569-1572, 1999; J Biol Chem 276: 3254-3261, 2001; y Cancer Res 61: 474-477, 2001). En una realización adicional, tanto X1 como X3 son dominios de transducción. En una divulgación adicional, el dominio o los dominios de transducción se seleccionan del grupo que consiste en (R)₄₋₉; GRKKRRQRRRPPQ; RQRKCRG; GRKKRRQR; AYARAAARQARA; DAATATRGRSAASRPTERPRAPARSASRPPRVE; GWTLNSAGYLLGLINLKALAALAKKIL; PLSSIFSRIGDP; AAVALLPAVLLALLAP; AAVLLPVLLAAP; VTVLALGALAGVGVG; GALFLGWLGAAGSTMGAWSQP; GWTLNSAGYLLGLINLKALAALAKKIL; 55 KLALKLALKALKAALKLA; KETWWETWWTEWSQPKKKRKY; KAFKLAARLYRKA; KAFKLAARLYRAA; AAFKLAARLYRKA; KAFAALAARLYRKA; KAFKLAARLYRKAGC; KAFKLAARLYRAAGC; AAFKLAARLYRKAGC; KAFAALAARLYRKAGC; KAFKLAARLYRKAGC, AGGGYGRKKRRQRRR, y YARAAARQARA, YGRKKRRQRRR, WLRRKAWLRRKA, y WLRRKAWLRRKAWLRRKA.

60 Los polipéptidos ejemplares adicionales incluyen, pero sin limitación, cualquiera de los enumerados anteriormente, donde uno o ambos de Z1 o Z2 se seleccionan del grupo que consiste en WLRRKAWLRRKA; WLRRKAWLRRKAWLRRKA; YGRKKRRQRRR; YARAAARQARA; RQRKCRG; y GRKKRRQR así como

YARAAARQARAKALNRQLGVA;
 YGRKKRRQRRKALNRQLGVA;

GRKKRRQRKALNRQLGVA;
 RQRRKKRGKALNRQLGVA;
 WLRRKAWLRRKAKALNRQLGVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALNRQLGVA.
 5
 YAAAAARQARAKKKALNRQLGVA;
 YGRKKRRQRRRKKKALNRQLGVA;
 RQRRKKRGKKKALNRQLGVA;
 GRKKRRQRKKKALNRQLGVA;
 10
 WLRRKAWLRRKAKKKALNRQLGVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALNRQLGVA;
 YAAAAARQARAKKKALNRGLGVA;
 YGRKKRRQRRRKKKALNRGLGVA;
 RQRRKKRGKKKALNRGLGVA;
 GRKKRRQRKKKALNRGLGVA;
 15
 WLRRKAWLRRKAKKKALNRGLGVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALNRGLGVA;
 YAAAAARQARAKKKALNRQLAVA;
 YGRKKRRQRRRKKKALNRQLAVA;
 RQRRKKRGKKKALNRQLAVA;
 GRKKRRQRKKKALNRQLAVA;
 20
 WLRRKAWLRRKAKKKALNRQLAVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALNRQLAVA;
 YAAAAARQARAKKKALARQLGVA;
 YGRKKRRQRRRKKKALARQLGVA;
 RQRRKKRGKKKALARQLGVA;
 GRKKRRQRKKKALARQLGVA;
 25
 WLRRKAWLRRKAKKKALARQLGVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALARQLGVA;
 30
 YAAAAARQARAKALNRGLGVA;
 YGRKKRRQRRRKALNRGLGVA;
 RQRRKKRGKALNRGLGVA;
 GRKKRRQRKALNRGLGVA;
 35
 WLRRKAWLRRKAKALNRGLGVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALNRGLGVA;
 YAAAAARQARAKALNRQLAVA;
 YGRKKRRQRRRKALNRQLAVA;
 RQRRKKRGKALNRQLAVA;
 GRKKRRQRKALNRQLAVA;
 40
 WLRRKAWLRRKAKALNRQLAVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALNRQLAVA;
 YAAAAARQARAKALARQLGVA;
 YGRKKRRQRRRKALARQLGVA;
 RQRRKKRGKALARQLGVA;
 GRKKRRQRKALARQLGVA;
 45
 WLRRKAWLRRKAKALARQLGVA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALARQLGVA;
 50
 YAAAAARQARAKKKALNRGLGVAA;
 YGRKKRRQRRRKKKALNRGLGVAA;
 RQRRKKRGKKKALNRGLGVAA;
 GRKKRRQRKKKALNRGLGVAA;
 55
 WLRRKAWLRRKAKKKALNRGLGVAA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALNRGLGVAA;
 YAAAAARQARAKKKALNRQLAVAA;
 YGRKKRRQRRRKKKALNRQLAVAA;
 RQRRKKRGKKKALNRQLAVAA;
 GRKKRRQRKKKALNRQLAVAA;
 60
 WLRRKAWLRRKAKKKALNRQLAVAA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALNRQLAVAA;
 YAAAAARQARAKKKALARQLGVAA;
 YGRKKRRQRRRKKKALARQLGVAA;
 RQRRKKRGKKKALARQLGVAA;
 GRKKRRQRKKKALARQLGVAA;
 65

WLRRKAWLRRKAKKKALARQLGVAA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKKKALARQLGVAA;
 YARAAARQARAKALNRGLGVAA;
 YGRKKRRQRRRKALNRGLGVAA;
 5 RQRRKKRGKALNRGLGVAA;
 GRKKRRQRKALNRGLGVAA;
 WLRRKAWLRRKAKALNRGLGVAA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALNRGLGVAA;
 10 YARAAARQARAKALNRQLAVAA;
 YGRKKRRQRRRKALNRQLAVAA;
 RQRRKKRGKALNRQLAVAA;
 GRKKRRQRKALNRQLAVAA;
 WLRRKAWLRRKAKALNRQLAVAA;
 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALNRQLAVAA;
 15 YGRKKRRQRRRKALARQLGVAA;
 RQRRKKRGKALARQLGVAA;
 GRKKRRQRKALARQLGVAA;
 WLRRKAWLRRKAKALARQLGVAA; y
 20 WLRRKAWLRRKAWLRRKAKALARQLGVAA.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones, que comprenden el polipéptido YARAAARQARAKALARQLGVAA y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones farmacéuticas son especialmente útiles para llevar a cabo los métodos de la invención descritos posteriormente. Para administración, el polipéptido se combina habitualmente con uno o más adyuvantes apropiados para la vía de administración indicada. El compuesto puede mezclarse con lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácidos alcanóicos, ácido esteárico, talco, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfóricos y sulfúricos, goma arábiga, gelatina, alginato sódico, polivinilpirrolidona, sulfato de dextrano, recubrimientos o composiciones de gel o no de gel que contienen heparina y/o alcohol polivinílico, y se comprime o encapsula para administración convencional. Como alternativa, el compuesto de la presente invención puede disolverse en solución salina, agua, polietilenglicol, propilenglicol, soluciones coloidales de carboximetilcelulosa, etanol, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, goma de tragacanto y/o diversos tampones. Se conocen bien en la técnica farmacéutica otros adyuvantes y modos de administración. El vehículo o diluyente puede incluir material de retardo temporal, tal como gliceril monoestearato o gliceril diestearato solo o con una cera, u otros materiales bien conocidos en la técnica. El polipéptido puede unirse con otros compuestos para promover una semivida aumentada *in vivo*, tales como polietilenglicol. Dicho enlace puede ser covalente o no covalente como se entiende por los expertos en la materia.

El polipéptido puede componerse en una forma sólida (incluyendo gránulos, polvos o supositorios) o en una forma líquida (por ejemplo, soluciones, suspensiones o emulsiones). El polipéptido de la invención puede aplicarse en una diversidad de soluciones. Las soluciones adecuadas para su uso de acuerdo con la invención son estériles, disuelven suficientes cantidades de los polipéptidos y no son perjudiciales para la aplicación propuesta.

La presente divulgación incluye un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido de la presente invención. Los ácidos nucleicos apropiados de acuerdo con la presente divulgación resultarán evidentes para un experto en la materia basándose en la divulgación proporcionada en el presente documento y el nivel general de experiencia en la técnica.

La presente divulgación incluye un vector de expresión que comprende secuencias de control de ADN unidas operativamente con los ácidos nucleicos aislados divulgados, como se ha divulgado anteriormente. Las "secuencias de control" unidas operativamente con los ácidos nucleicos son secuencias de ácidos nucleicos capaces de efectuar la expresión de los ácidos nucleicos divulgados. No es necesario que las secuencias de control sean contiguas con los ácidos nucleicos, siempre que actúen para dirigir la expresión de los mismos. Por lo tanto, por ejemplo, pueden estar presentes secuencias no traducidas intermedias pero transcritas entre una secuencia promotora y el ácido nucleico y la secuencia promotora aún puede considerarse "unida operativamente" con la secuencia codificante. Otras de dichas secuencias de control incluyen, pero sin limitación, señales de poliadenilación, señales de determinación, y sitios de unión a ribosomas. Dichos vectores de expresión pueden ser de cualquier tipo conocido en la técnica, incluyendo pero sin limitación vectores de expresión basados en plásmidos y virales.

La presente divulgación también incluye células hospedadoras modificadas por ingeniería genética que comprenden los vectores de expresión divulgados. Dichas células hospedadoras pueden ser células procariotas o células eucariotas, y pueden transfectarse de forma transitoria o estable, o pueden transducirse con vectores virales.

En otro aspecto, la invención proporciona dispositivos biomédicos que comprenden el polipéptido YARAAARQARAKALARQLGVAA dispuesto en o sobre el dispositivo biomédico. Como se usa en el presente documento, un "dispositivo biomédico" se refiere a un dispositivo que puede implantarse en un sujeto, por ejemplo, un ser humano, para proporcionar un resultado deseado. Los dispositivos biomédicos particularmente preferidos de

acuerdo con este aspecto de la invención incluyen, pero sin limitación, endoprótesis vasculares (incluyendo pero sin limitación endoprótesis coronarias), injertos (incluyendo pero sin limitación injertos vasculares), shunts, injertos de endoprótesis vasculares, fístulas, dispositivos de angioplastia, catéteres de globo, catéteres venosos, dispositivos de suministro farmacológico implantables, barreras de adhesión (incluyendo pero sin limitación carboximetilcelulosa, ácido hialurónico y láminas de PTFE) para separar el tejido, apósitos tales como películas (por ejemplo, películas de poliuretano), hidrocoloides (partículas coloidales hidrófilas unidas con espuma de poliuretano), hidrogeles (polímeros reticulados que contienen aproximadamente al menos 60 % de agua), otros líquidos viscosos y especies de tipo hidrogel (incluyendo pero sin limitación, las divulgadas en el documento US 20030190364), espumas (hidrófilas o hidrófobas), alginatos de calcio (compuestos no entrelazados de fibras de alginato de calcio), celofán, pluronics (es decir, poli(etilenglicol)-bloque-poli(propilenglicol)) y polímeros biológicos.

Como se usa en el presente documento, el término “injertos” se refiere a injertos e implantes tanto naturales como prostéticos. En una realización preferida el injerto es un injerto vascular.

Como se usa en el presente documento, la expresión “endoprótesis vascular” incluye la endoprótesis vascular en sí misma, así como cualquier vaina u otro componente que puede usarse para facilitar la colocación de la endoprótesis vascular.

Como se usa en el presente documento, “dispuesto en o sobre” significa que el polipéptido puede estar directa o indirectamente en contacto con una superficie externa, una superficie interna, o incluido dentro del dispositivo biomédico. El contacto “directo” se refiere a la disposición del polipéptido directamente en o sobre el dispositivo, incluyendo pero sin limitación empapar un dispositivo biomédico en una solución que contiene el polipéptido, recubrir por centrifugado o pulverizar de una solución que contiene el polipéptido en un dispositivo, implantar cualquier dispositivo que suministre el polipéptido, y administrar el polipéptido a través de un catéter directamente a la superficie o en cualquier órgano.

El contacto “indirecto” significa que el polipéptido no entra en contacto directamente con el dispositivo biomédico. Por ejemplo, el polipéptido puede estar dispuesto en una matriz, tal como una matriz de gel (tal como un recubrimiento de heparina) o un fluido viscoso, que se dispone sobre el dispositivo biomédico. Dichas matrices pueden prepararse para, por ejemplo, modificar las propiedades de unión y liberación del polipéptido según se requiera. En un ejemplo no limitante, se dispone un recubrimiento de heparina sobre el dispositivo biomédico (tal como una lámina o un dispositivo vascular de poli(tetrafluoroetileno) (PTFE)) y el polipéptido se dispone sobre o en un recubrimiento de heparina; en este ejemplo, el polipéptido puede suministrarse a un sujeto que lo necesite de una manera controlada. En un ejemplo no limitante, la liberación del polipéptido de superficies intersticiales de láminas o dispositivos vasculares de poli(tetrafluoroetileno) (PTFE) puede controlarse adsorbiendo o uniendo en primer lugar la heparina con la superficie y/o intersticios del dispositivo de PTFE seguido de adsorción del polipéptido. También pueden usarse capas alternantes de heparina y el polipéptido para aumentar la dosis del polipéptido y/o momento de liberación. En condiciones fisiológicas dentro del cuerpo, la cinética de la asociación y disociación de polipéptidos divulgados en el presente documento con y desde heparina conducirá a un perfil de liberación retardada en comparación con liberación de los polipéptidos desde un dispositivo de PTFE desnudo. Además, el perfil de liberación puede alterarse adicionalmente mediante cambios en la temperatura local, pH o fuerza iónica. Dicha liberación controlada tiene gran valor para su uso en los diversos tratamientos terapéuticos para los que pueden usarse los dispositivos biomédicos, como se analiza posteriormente.

Se conocen en la técnica recubrimientos de heparina sobre diversos dispositivos médicos. Las aplicaciones en seres humanos incluyen catéteres venosos centrales, endoprótesis vasculares coronarias, dispositivos de asistencia ventricular, circuitos de sangre extracorpóreos, dispositivos de toma de muestras sanguíneas e injertos vasculares. Dicho recubrimientos pueden estar una forma de gel o no de gel. Como se usa en el presente documento “recubrimiento de heparina” incluye heparina adsorbida en la superficie, heparina unida con la superficie, y heparina incluida en la superficie del polímero de PTFE. Un ejemplo del método para unir la heparina sería usar plasma de amoníaco para tratar, por ejemplo, una superficie de PTFE y hacer reaccionar las aminas resultantes con heparina oxidada. La acumulación capa a capa de la heparina y uno o más polipéptidos podría usarse después para aumentar el polipéptido en la superficie y expandir el tiempo de suministro. Las formas de gel del recubrimiento de heparina pueden incluir, pero sin limitación, cualquier hidrogel que contenga heparina unida bien covalentemente o bien físicamente al gel. El recubrimiento de heparina se dispone sobre el dispositivo biomédico, que incluye contacto directo con una superficie externa o una superficie interna del dispositivo biomédico, o se incluye dentro del dispositivo biomédico. El contacto “directo” se refiere a la disposición directamente sobre o en el dispositivo, incluyendo pero sin limitación, empapar un dispositivo biomédico en una solución que contiene heparina (donde los polipéptidos pueden añadirse como parte de la solución de recubrimiento de heparina, o pueden disponerse posteriormente en o sobre en el recubrimiento de heparina después de que entre en contacto con el dispositivo), recubrir por centrifugación o pulverizar una solución de recubrimiento de heparina en el dispositivo (donde los polipéptidos pueden añadirse como parte de la solución de recubrimiento de heparina, o pueden disponerse posteriormente en o sobre el recubrimiento de heparina después de que entre en contacto con el dispositivo), y administrar la solución de recubrimiento de heparina que contiene los polipéptidos a través de un catéter directamente sobre la superficie o en cualquier órgano. Las características físicas y composición específica de la capa de heparina pueden ser cualesquiera que proporcionen el perfil de liberación deseado del o los polipéptidos.

Véase, por ejemplo, Seal y Panitch, *Biomacromolecules* 2003(4): 1572-1582 (2003); documento US20030190364; y Carmeda BioActive Surface (CBAS™) el producto de Carmeda AB en Estocolmo, Suecia. El contacto "indirecto" significa que el recubrimiento de heparina no está directamente en contacto con el dispositivo tal como, por ejemplo, cuando se coloca un recubrimiento intermedio entre la superficie del dispositivo y el recubrimiento de heparina. En un ejemplo no limitante, el o los polipéptidos podrían adsorberse inicialmente (directa o indirectamente) y después adsorberse en un recubrimiento de heparina; esto podría seguirse opcionalmente por capas polipeptídicas, capas de heparina, o combinaciones de las mismas posteriores, según se desee. Como se entenderá por los expertos en la materia, puede usarse cualquier polisacárido sulfatado o polímero con carga negativa de manera similar a la heparina como se ha descrito anteriormente, para proporcionar características de liberación deseadas.

La presente divulgación incluye métodos para uno o más de los siguientes usos terapéuticos

(a) reducir la proliferación y/o migración de células del músculo liso; (b) promover la relajación del músculo liso; (c) aumentar la frecuencia contráctil del músculo cardíaco; (d) aumentar la frecuencia de relajación del músculo cardíaco; (e) promover la curación de heridas; (f) tratar y/o reducir trastornos fibróticos y/o queloides; (g) reducir la formación de cicatrices; (h) alterar las adhesiones focales; (i) regular la polimerización de actina; y (j) tratar o reducir la incidencia de uno o más de hiperplasia de la íntima, estenosis, reestenosis, aterosclerosis, tumores y metástasis de células de músculo liso, espasmo del músculo liso, angina, angina de Prinzmetal (vasoespasm coronario), isquemia, ictus, bradicardia, hipertensión, hipertrofia cardíaca y otros daños de órganos finales asociados con la hipertensión (incluyendo pero sin limitación insuficiencia renal e ictus), hipertensión pulmonar (de pulmón), asma (broncoespasmo), toxemia del embarazo, parto prematuro, preeclampsia/eclampsia, enfermedad o fenómeno de Raynaud, uremia hemolítica, isquemia mesentérica no oclusiva, fisura anal, acalasia, impotencia, migraña, lesión muscular isquémica asociada con espasmo del músculo liso, vasculopatía, tal como vasculopatía de trasplante; bradiarritmia, bradicardia, insuficiencia cardíaca congestiva, miocardio aturdido, hipertensión pulmonar, disfunción diastólica, gliosis (proliferación de astrocitos, y puede incluir deposición de matriz extracelular, incluyendo pero sin limitación dicha proliferación y deposición de ECM en áreas dañadas del sistema nervioso central); enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (es decir, enfermedades del tracto respiratorio caracterizadas por obstrucción o limitación de las vías aéreas; incluyendo, pero sin limitación, bronquitis crónica y enfisema) reabsorción del hueso (osteopenia) asociada con el envejecimiento o la inmovilización (lo que conduce a fracturas óseas); disfunción endotelial limitante e inflamación;

donde el método comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz para llevar a cabo el o los usos terapéuticos de uno o más polipéptidos divulgados o de la invención o equivalentes funcionales de los mismos.

Sin quedar ligado a ningún mecanismo específico, los inventores creen que el polipéptido YARAAARQARAKALARQLGVAA de la presente invención proporciona su efecto terapéutico como resultado de inhibir la fosforilación de HSP27 por HSP27 quinasa (MAPKAP2), aunque la presente invención también abarca mecanismos alternativos, incluyendo pero sin limitación inhibición de la fosforilación de HSP27 por MAPKAP3 y MAPKAPS.

Dado que MAPKAP2 está cadena abajo de la MAP quinasa p38, cualquier uso terapéutico para el que sean útiles los inhibidores de MAPK p38 también están dentro del alcance de la presente divulgación.

En una divulgación el individuo es un mamífero; en otra divulgación, el individuo un ser humano.

Como se usa en el presente documento, "tratar" o "tratando" significa conseguir uno o más de los siguientes: (a) reducir la gravedad del trastorno; (b) evitar el desarrollo de síntomas característicos del trastorno o los trastornos que se tratan; (c) limitar el empeoramiento de síntomas característicos del trastorno o los trastornos que se tratan; (d) limitar la reaparición del trastorno o los trastornos en pacientes que han tenido previamente el trastorno o los trastornos; y (e) limitar la reaparición de síntomas en pacientes que han sido previamente sintomáticos para el trastorno o los trastornos.

Como se usa en el presente documento, el término "reducir" o "reduciendo" significa limitar la aparición del trastorno en individuos en riesgo de desarrollar el trastorno.

Como se usa en el presente documento, "administrar" incluye administración *in vivo*, así como administración directamente a tejido *ex vivo*, tal como injertos venosos.

La hiperplasia de la íntima es un proceso complejo que conduce a insuficiencia del injerto, y es la causa más habitual de fallo de los injertos de derivación arterial. Aunque no se entiende completamente, la hiperplasia de la íntima está mediada por una secuencia de acontecimientos que incluyen lesión de células endoteliales y posterior proliferación de músculo liso vascular y migración del medio a la íntima. Este proceso está asociado con una modulación fenotípica de las células del músculo liso de un fenotipo contráctil a uno sintético. Las células del músculo liso "sintéticas" secretan proteínas de matriz extracelular, lo que conduce a estrechamiento patológico del lumen de los vasos lo que conduce a estenosis del injerto y en última instancia fallo del injerto. Dicha lesión de células endoteliales y posterior proliferación de células de músculo liso y migración a la íntima también caracterizan

la reestenosis, más habitualmente después de angioplastia para despejar un vaso sanguíneo obstruido.

En algunas divulgaciones de los métodos de la invención, tales como los relacionados con la reducción de la aparición de proliferación y/o migración de células de músculo liso, o promoción de la relajación del músculo liso, la administración puede ser directa, poniendo en contacto un vaso sanguíneo en un sujeto que se trata con uno o más polipéptidos de la invención. Por ejemplo, puede forzarse una preparación líquida de uno o más polipéptidos de acuerdo con la invención a través de un catéter poroso, o inyectarse de otro modo a través de un catéter al sitio de la lesión, o puede extenderse un gel o líquido viscoso que contenga el o los polipéptidos de acuerdo con la invención en el sitio de la lesión. En estas divulgaciones de suministro directo, se prefiere más que el o los polipéptidos de la invención o divulgados se suministren a células del músculo liso en el sitio de la lesión o intervención. Esto puede conseguirse, por ejemplo, suministrando vectores de expresión recombinante (más preferentemente un vector viral, tal como un vector adenoviral) de la invención al sitio. Más preferentemente, se consigue suministro en células de músculo liso usando el o los polipéptidos de la invención o divulgados que incluyen al menos un dominio de transducción para facilitar la entrada en las células del músculo liso.

En diversas otras divulgaciones de este método de la invención, particularmente las que implican reducir la aparición de proliferación y/o migración de células de músculo liso, el método se realiza en un sujeto que se ha sometido, se está sometiendo o se va a someter a un procedimiento seleccionado del grupo que consiste en angioplastia, colocación de endoprótesis vascular, endarterectomía, aterectomía, cirugía de derivación (tal como derivación de arteria coronaria; cirugías de derivación vascular periférica), injerto vascular, trasplante de órganos, implante de dispositivo prostético, reconstrucciones microvasculares, construcción de colgajo quirúrgico plástico y colocación de catéter.

En otra divulgación, los métodos comprenden tratar o reducir la aparición de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en hiperplasia de la íntima o neoíntima, estenosis, reestenosis y aterosclerosis, que comprenden poner en contacto a un sujeto que lo necesite con una cantidad eficaz para tratar o reducir la hiperplasia de la íntima o neoíntima, estenosis, reestenosis y/o aterosclerosis de uno o más polipéptidos de acuerdo con la invención.

En una divulgación adicional, el método se usa para tratar tumores y/o metástasis, incluyendo pero sin limitación tumores del músculo liso. En una divulgación, el tumor es un leiomioma, que se define como una neoplasia maligna que surge del músculo. Dado que los leiomiomas pueden surgir de las paredes de vasos sanguíneos tanto grandes como pequeños, pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo, pero son más comunes los leiomiomas peritoneales, uterinos y gastrointestinales (particularmente esofágicos). Como alternativa, el tumor de músculo liso puede ser un leiomioma, una neoplasia de músculo liso no maligna. En una divulgación adicional, el método puede combinarse con otros tratamientos para tumores y/o metástasis de células de músculo liso, tales como quimioterapia, radioterapia y cirugía para retirar el tumor. Sin estar limitado a ningún mecanismo específico, los inventores creen que la administración de los polipéptidos de la invención o divulgados puede usarse para tratar tumores y/o metástasis por cualquiera de o todos los siguientes mecanismos: prevenir la resistencia a fármacos para fármacos antineoplásicos o promover la susceptibilidad a fármacos antineoplásicos, promover la apoptosis de células cancerosas, reducir la invasión celular a través de expresión de metaloproteína de matriz reducida y migración reducida de células cancerosas, y mediante supresión de la oncogénesis viral.

En una divulgación adicional, los métodos se usan para tratar o reducir la aparición de espasmos del músculo liso, que comprenden poner en contacto un sujeto o injerto que lo necesite con una cantidad eficaz para reducir el espasmo del músculo liso de uno o más polipéptidos de la invención o divulgados.

Se encuentran músculos lisos en las paredes de vasos sanguíneos, vías respiratorias, el tracto gastrointestinal y el tracto genitourinario. La contracción tónica patológica del músculo liso constituye un espasmo. Muchas afecciones patológicas se asocian con el espasmo del músculo liso vascular ("vasoespasmo"), el músculo liso que reviste los vasos sanguíneos. Esto puede provocar síntomas tales como angina e isquemia (si está implicada una arteria coronaria), o ictus como en el caso de vasoespasmo inducido por hemorragia subaracnoidea si está implicado un vaso cerebral. La hipertensión (alta presión sanguínea) está provocada por vasoconstricción excesiva, así como engrosamiento, de la pared vascular, particularmente en los vasos más pequeños de la circulación.

Por lo tanto, en una divulgación adicional, el espasmo de células musculares comprende un vasoespasmo, y los métodos de la invención se usan para tratar o reducir la aparición de vasoespasmo. Las divulgaciones del método incluyen, pero sin limitación, métodos para tratar o inhibir la angina, vasoespasmo coronario, angina de Prinzmetal (espasmo focal episódico de una arteria coronaria epicárdica), isquemia, ictus, bradicardia e hipertensión.

En otra divulgación de los métodos, la aparición de espasmo del músculo liso se reduce por tratamiento de un injerto, tal como un injerto venoso o arterial, con el o los polipéptidos de la invención o divulgados. Uno de los conductos ideales para reconstrucción vascular periférica y coronaria es la vena safena mayor. Sin embargo, la manipulación quirúrgica durante la recogida del conducto con frecuencia conduce a vasoespasmo. La etiología exacta del vasoespasmo es compleja y más probablemente multifactorial. La mayoría de las investigaciones han sugerido que el vasoespasmo se debe a la constricción potenciada o relajación alterada del músculo liso vascular en el medio de la vena. Numerosos agentes vasoconstrictores tales como endotelina-1 y tromboxano aumentan durante la

5 cirugía y dan como resultado contracción del músculo liso vascular. Otros vasoconstrictores tales como norepinefrina, 5-hidroxitriptamina, acetilcolina, histamina, angiotensina II, y fenilefrina se han implicado en el espasmo de injerto venoso. La papaverina es un vasodilatador del músculo liso que se ha usado. En circunstancias en las que el espasmo se produce incluso en presencia de papaverina, los cirujanos usan distensión mecánica intraluminal para romper el espasmo. Esto conduce a lesión de la pared del injerto venoso y posterior hiperplasia de la íntima. La hiperplasia de la íntima es la causa principal de fallo del injerto.

10 Por lo tanto, en la presente divulgación, el injerto puede ponerse en contacto con el o los polipéptidos de acuerdo con la invención, durante la recogida del donante de injerto, después de la recogida (antes de la implantación) y/o durante la implantación en el receptor del injerto (es decir: *ex vitro* o *in vivo*). Esto puede conseguirse, por ejemplo, suministrando los vectores de expresión recombinantes (más preferentemente un vector viral, tal como un vector adenoviral) de la invención al sitio, y transfectando las células del músculo liso. Más preferentemente, se consigue suministro en el músculo liso usando el o los polipéptidos de acuerdo con la invención que incluyen al menos un dominio de transducción para facilitar la entrada en las células del músculo liso. Durante la implantación de injertos, se prefiere que el sujeto que recibe el injerto se trate de forma sistémica con heparina, dado que se ha mostrado que la heparina se une con dominios de transducción de proteínas y evita que se transduzcan a células. Este enfoque conducirá a transducción de proteínas localizada del injerto solamente, y no a tejidos periféricos. Los métodos de acuerdo con la presente divulgación reducen la aparición de espasmo de injerto venoso durante la recogida y/o implantación del injerto, y de este modo mejoran el éxito del injerto tanto a corto como a largo plazo.

20 En diversas otras divulgaciones de los métodos, el espasmo de células musculares se asocia con un trastorno incluyendo, pero sin limitación hipertensión pulmonar (de pulmón), asma (broncoespasmo), toxemia del embarazo, parto prematuro, preeclampsia/eclampsia, enfermedad o fenómeno de Raynaud, uremia hemolítica, isquemia mesentérica no oclusiva (isquemia de los intestinos que está provocada por flujo sanguíneo inadecuado a los intestinos), fisura anal (que está provocada por espasmo persistente del esfínter anal interno), acalasia (que está provocada por espasmo persistente del esfínter esofágico inferior), impotencia (que está provocada por una falta de relajación de los vasos en el pene, la erección requiere vasodilatación de los vasos sanguíneos del cuerpo cavernoso (penianos), migraña (que está provocada por espasmo de los vasos sanguíneos intracraneales), lesión muscular isquémica asociada con espasmo del músculo liso y vasculopatía, tal como vasculopatía de trasplante (una reacción en los vasos trasplantados que es similar a la aterosclerosis, implica remodelación constrictiva y en última instancia anulación de los vasos sanguíneos trasplantados, ésta es la causa principal de fallo del trasplante cardiaco).

35 En otras divulgaciones, los métodos de la invención se usan para uno o más de promover la curación de heridas, reducir la formación de cicatrices, tratar y/o reducir los trastornos fibróticos y tratar y/o reducir los queloides. En estas divulgaciones, un "individuo que lo necesite" es un individuo que ha padecido o padecerá (por ejemplo, mediante un procedimiento quirúrgico) una herida que puede dar como resultado formación de cicatriz, o ha dado como resultado formación de cicatriz. Como se usa en el presente documento, el término "herida" se refiere en general a lesiones de la piel y el tejido subcutáneo. Dichas heridas incluyen, pero sin limitación laceraciones; quemaduras; punciones; úlceras de presión; úlceras de decúbito; aftas; traumatismo, mordeduras; fístulas; úlceras; lesiones provocadas por infecciones; heridas periodontales; heridas endodónticas; síndrome de boca ardiente; heridas de laparotomía; heridas quirúrgicas; heridas de incisión; contracturas después de quemaduras; fibrosis tisular, incluyendo pero sin limitación fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis retroperitoneal y fibrosis quística, pero excluyendo fibrosis de los vasos sanguíneos o fibrosis del tejido cardíaco; y heridas resultantes de procedimientos quirúrgicos cosméticos. En estas divulgaciones, se prefiere que el o los polipéptidos o composiciones se dispongan en o sobre un apósito u otra administración tópica. Dichos apósitos pueden ser cualquiera usado en la técnica, incluyendo pero sin limitación películas (por ejemplo, películas de poliuretano), hidrocoloides (partículas coloidales hidrófilas unidas con espuma de poliuretano), hidrogeles (polímeros reticulados que contienen aproximadamente al menos 60 % de agua), espumas (hidrófilas o hidrófobas), alginatos cálcicos (compuestos no entrelazados de fibras de alginato cálcico), celofán y polímeros biológicos tales como los descritos en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos número 20030190364, publicada el 9 de octubre de 2003.

50 Como se usa en el presente documento, la frase "reducir la formación de cicatrices" significa cualquier reducción de la formación de cicatrices que proporcione un beneficio terapéutico o cosmético para el paciente. Dicho beneficio terapéutico o cosmético puede conseguirse, por ejemplo, reduciendo el tamaño y/o profundidad de una cicatriz en relación con la formación de cicatriz en ausencia de tratamiento con los métodos de la invención, o reduciendo el tamaño de una cicatriz existente. Como se usa en el presente documento, dichas cicatrices incluyen cicatrices de todos los tipos, incluyendo pero sin limitación, queloides; cicatrices hipertróficas; y formación de adhesión entre superficies de órganos, incluyendo pero sin limitación las que se producen como resultado de la cirugía.

60 Los métodos de acuerdo con estas divulgaciones son clínicamente útiles para tratar todos los tipos de heridas para reducir la formación de cicatrices, tanto para reducir la formación de cicatrices inicial, como para el tratamiento terapéutico de cicatrices existentes (es decir: retirar cortando la cicatriz después de su formación, tratarla con los compuestos de la invención y dejar que la cicatriz se cure más lentamente). En una divulgación, los individuos que necesitan tratamiento o limitación de la cicatrización (tales como queloides o cicatrización hipertrófica) son individuos altamente pigmentados, incluyendo pero sin limitación individuos de origen asiático o africano, que son susceptibles

a queloides, y por lo tanto se pueden beneficiar de los métodos de la invención para terapia profiláctica para limitar el desarrollo de queloides, así como para el tratamiento de queloides. En diversas otras divulgaciones, los individuos que necesitan terapia para tratar o limitar los trastornos fibróticos son los que padecen o están en riesgo de uno o más trastornos fibróticos asociados con la expresión de CTGF inducida por TGF β , incluyendo pero sin limitación fibrosis tisular (incluyendo pero sin limitación fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis retroperitoneal, fibrosis quística, fibrosis de los vasos sanguíneos, fibrosis del SNC y fibrosis de tejido cardíaco); nefropatía diabética, glomeruloesclerosis y nefropatía de IgA (causas de insuficiencia renal y la necesidad de diálisis y trasplante); retinopatía diabética y degeneración macular (enfermedades fibróticas del ojo y causas principales de la ceguera); cirrosis y atresia biliar (causas principales de fibrosis e insuficiencia hepática); insuficiencia cardíaca congestiva; fibrosis pulmonar; esclerodermia; adhesiones abdominales; y fibrosis intersticial.

En diversas otras divulgaciones en el presente documento, los individuos que necesitan terapia para tratar y/o limitar los trastornos fibróticos y/o queloides son los que tienen niveles elevados de uno o más de los siguientes biomarcadores:

Expresión de TGF β 1;
colágeno I;
expresión de CTGF; y
actina de músculo liso alfa.

Pueden detectarse niveles elevados de dichos biomarcadores usando técnicas convencionales, incluyendo pero sin limitación, técnicas inmunológicas (ELISA, inmunocitoquímica, etc.) usando anticuerpos disponibles en el mercado contra el o los biomarcadores.

Como se divulga posteriormente, el polipéptido de la invención inhibe la expresión de colágeno y CTGF inducida por TGF β 1 en fibroblastos queloides humanos, que están elevados en afecciones fibróticas; lo que indica que los individuos con niveles elevados de uno o más de estos biomarcadores pueden beneficiarse especialmente de los métodos de la presente invención. Como se usa en el presente documento, un nivel "elevado" del o los biomarcadores significa cualquier aumento por encima de lo normal para ese individuo o individuos en situación similar en un tejido diana relevante. Dichos tejidos diana son los afectados por condiciones afecciones fibróticas, incluyendo pero sin limitación sangre, exudado de heridas y biopsias tomadas de tejidos afectados por fibrosis incluyendo pero sin limitación los divulgados anteriormente (piel, riñón, pulmón, hígado, peritoneo, vaso sanguíneo, corazón, retina, etc.). En diversas realizaciones adicionales, un individuo que lo necesite es uno que tiene un nivel de uno o más de los biomarcadores enumerados 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % o más por encima de los niveles normales. La determinación del nivel del o los biomarcadores puede realizarse usando técnicas convencionales en este campo para medir la expresión génica y/o proteica, incluyendo pero sin limitación los divulgados posteriormente.

Un nivel "normal" de este o estos biomarcadores puede establecerse por cualquier medio adecuado, incluyendo pero sin limitación determinar un nivel normal en ese individuo o individuos en situación similar en ausencia de afecciones fibróticas y/o queloides, o cualquier otro medio adecuado para establecer un patrón de referencia.

Las vías preferidas de suministro para estas diversas indicaciones de las diferentes divulgaciones de los métodos de la invención varían. Se prefiere administración tópica para métodos que impliquen el tratamiento o reducción de la incidencia de espasmo de injerto venoso, hiperplasia de la íntima, reestenosis, insuficiencia de injertos prostéticos debido a la hiperplasia de la íntima, endoprótesis vascular, insuficiencia del injerto de la endoprótesis vascular debido a remodelación constrictiva/hiperplasia de la íntima, fallo del injerto microvascular debido a vasoespasmo, vasculopatía de trasplante, cicatrización, fibrosis, formación de queloides, disfunción sexual masculina y femenina y para promover la curación de heridas. Como se usa en el presente documento, "administración tópica" se refiere a suministrar el polipéptido a la superficie del órgano.

La administración intratecal, definida como suministrar el polipéptido en el líquido cefalorraquídeo, es la vía preferida de suministro para tratar o reducir la incidencia de vasoespasmo inducido por hemorragia subaracnoidea e ictus. La administración intraperitoneal, definida como suministrar el polipéptido en la cavidad peritoneal, es la vía preferida de suministro para tratar o reducir la incidencia de isquemia mesentérica no oclusiva. La administración oral es la vía preferida de suministro para tratar o reducir la incidencia de acalasia. La administración intravenosa es la vía preferida de suministro para tratar o reducir la incidencia de hipertensión y bradicardia. La administración mediante supositorio se prefiere para tratar o reducir la incidencia de fisura anal. El suministro por aerosol se prefiere para tratar o reducir la incidencia de asma (es decir: broncoespasmo). Se prefiere administración intrauterina para tratar o reducir la incidencia de parto prematuro y preeclampsia/eclampsia.

En otra divulgación de los métodos descritos en el presente documento, los métodos se usan para aumentar la frecuencia contráctil en el músculo cardíaco. Los individuos que pueden beneficiarse de dicho tratamiento incluyen los que muestran una frecuencia cardíaca reducida en relación con una frecuencia cardíaca normal para el individuo, o en relación con una frecuencia cardíaca "normal" para un individuo en situación similar. Como se usa en el presente documento, la frase "aumentar la frecuencia contráctil en el músculo cardíaco" significa cualquier aumento

- en la frecuencia contráctil que proporcione un beneficio terapéutico al paciente. Dicho beneficio terapéutico puede conseguirse, por ejemplo, aumentando la frecuencia contráctil para acercarla a la frecuencia contráctil normal del individuo, una frecuencia contráctil normal para un individuo en situación similar o alguna otra frecuencia contráctil diana deseada. En una divulgación, los métodos dan como resultado un aumento de al menos el 5 % en la frecuencia contráctil del paciente que necesite dicho tratamiento. En divulgaciones adicionales, los métodos dan como resultado un aumento de al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % y/o 50 % en la frecuencia contráctil del paciente que necesite dicho tratamiento. En una divulgación, el aumento de la frecuencia contráctil en el músculo cardiaco se consigue aumentando la frecuencia de relajación del músculo cardiaco (es decir: si los músculos se relajan más rápido, laten más rápido). En otra divulgación, los métodos dan como resultado un aumento de al menos el 5 % en la frecuencia de relajación del músculo cardiaco del paciente que necesite dicho tratamiento. En divulgaciones adicionales, los métodos dan como resultado un aumento de al menos 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % y/o 50 % en la frecuencia de relajación del músculo cardiaco del paciente que necesite dicho tratamiento.
- En una divulgación adicional de los métodos, los métodos se realizan para tratar uno o más trastornos cardiacos que pueden beneficiarse de aumentar la frecuencia contráctil en el músculo cardiaco. Dichos trastornos cardiacos incluyen bradiarritmias, bradicardias, insuficiencia cardiaca congestiva, hipertensión pulmonar, miocardio aturdido y disfunción diastólica. Como se usa en el presente documento, "bradiarritmia" significa una reducción anómala de la frecuencia del latido cardiaco a menos de 60 latidos por minuto, generalmente provocada por una alteración de los impulsos eléctricos al corazón. Una causa habitual de las bradiarritmias es la enfermedad cardiaca coronaria, que conduce a la formación de ateromas que limitan el flujo de sangre al tejido cardiaco, y de este modo el tejido cardiaco se daña. Las bradiarritmias debidas a enfermedad de las arterias coronarias se producen más frecuentemente después del infarto de miocardio. Los síntomas incluyen, pero sin limitación, pérdida de energía, debilidad, síncope e hipotensión. Como se usa en el presente documento, "insuficiencia cardiaca congestiva" significa una incapacidad de corazón para bombear aportes adecuados de sangre por todo el cuerpo. Dicha insuficiencia cardiaca puede deberse a una diversidad de afecciones o trastornos, incluyendo pero sin limitación hipertensión, anemia, hipertiroidismo, defectos de las válvulas cardiacas incluyendo pero sin limitación estenosis aórtica, insuficiencia aórtica e insuficiencia de la tricúspide; defectos cardiacos congénitos incluyendo pero sin limitación coartación de la aorta, defectos del septo, estenosis pulmonar y tetralogía de Fallot; arritmias, infarto de miocardio, cardiomiopatía, hipertensión pulmonar y enfermedad pulmonar incluyendo pero sin limitación bronquitis crónica y enfisema. Los síntomas de la insuficiencia cardiaca congestiva incluyen, pero sin limitación, fatiga, dificultad para respirar, edema pulmonar e hinchazón de los tobillos y las piernas.
- Como se usa en el presente documento, "miocardio aturdido" significa músculo cardiaco que no está funcionando (bombeando/latiendo) debido a isquemia cardiaca (falta de flujo sanguíneo/oxígeno a los vasos que abastecen al músculo cardiaco).
- Como se usa en el presente documento "disfunción diastólica" significa una incapacidad del corazón para llenarse de sangre durante la diástole (la fase de reposo de la contracción cardiaca). Esta afección sucede habitualmente al comienzo de la hipertrofia ventricular izquierda. El músculo cardiaco se agranda y se vuelve rígido de modo que no puede llenarse de forma adecuada. La disfunción diastólica puede dar como resultado insuficiencia cardiaca y función cardiaca inadecuada.
- Como se usa en el presente documento, "hipertensión pulmonar" significa un trastorno en el que la presión sanguínea en las arterias que abastecen a los pulmones es anormalmente alta. Las causas incluyen, pero sin limitación, aporte inadecuado de oxígeno a los pulmones, tal como en bronquitis crónica y enfisema; embolia pulmonar, y fibrosis pulmonar intestinal. Los síntomas y señales de hipertensión pulmonar son con frecuencia sutiles y no específicos. En los estadios tardíos, la hipertensión pulmonar conduce a insuficiencia cardiaca derecha que se asocia con agrandamiento del hígado, agrandamiento de venas en el cuello y edema generalizado.
- En una divulgación adicional de los métodos, se usan métodos para tratar un trastorno muscular cardiaco que comprenden administrar a un individuo que padece una o más de bradiarritmia, bradicardia, insuficiencia cardiaca congestiva, miocardio aturdido, hipertensión pulmonar y disfunción diastólica, una cantidad eficaz para aumentar la frecuencia contráctil del músculo cardiaco de uno o más polipéptidos de la invención o divulgados.
- El tratamiento de bradiarritmia incluye uno o más de los siguientes (a) mejorar la frecuencia del latido cardiaco a niveles más cercanos a lo normal para el individuo, más cercanos a una frecuencia deseada o que aumentan hasta al menos por encima de 60 latidos por minuto; (b) reducir la aparición de uno o más de pérdida de energía, debilidad, síncope e hipotensión en pacientes que padecen bradiarritmia; (c) reducir el empeoramiento de uno o más de pérdida de energía, debilidad, síncope e hipotensión en pacientes que padecen bradiarritmia y sus síntomas; (d) reducir la reaparición de bradiarritmia en pacientes que han padecido previamente bradiarritmia; y (e) reducir la reaparición de uno o más de pérdida de energía, debilidad, síncope e hipotensión en pacientes que previamente han padecido bradiarritmia.
- De forma similar, el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva incluye uno o más de los siguientes (a) mejorar la capacidad del corazón para bombear suministros adecuados de sangre por todo el cuerpo a niveles más

- cercanos a lo normal para el individuo, o más cercanos a una capacidad de bombeo deseada; (b) reducir el desarrollo de uno o más de fatiga, dificultad respiratoria, edema pulmonar e hinchazón de los tobillos y las piernas en pacientes que padecen insuficiencia cardiaca congestiva; (c) reducir el empeoramiento de uno o más de fatiga, dificultad respiratoria, edema pulmonar, e hinchazón de los tobillos y las piernas en pacientes que padecen
- 5 insuficiencia cardiaca congestiva y sus síntomas; (d) reducir la reaparición de insuficiencia cardiaca congestiva en pacientes que previamente han padecido insuficiencia cardiaca congestiva; y (e) reducir la reaparición de uno o más de fatiga, dificultad respiratoria, edema pulmonar e hinchazón de los tobillos y las piernas en pacientes que previamente han padecido insuficiencia cardiaca congestiva.
- 10 El tratamiento de miocardio aturcido significa uno o más de (a) mejorar la capacidad del músculo cardiaco para bombear mejorando la oxigenación del músculo isquémico, o reduciendo la necesidad de las células miocárdicas de oxígeno y (b) reducir la reaparición de miocardio aturcido en pacientes que han padecido previamente miocardio aturcido.
- 15 De forma similar, el tratamiento de la disfunción diastólica incluye uno o más de (a) reducir la aparición de insuficiencia cardiaca y/o función cardiaca inadecuada permitiendo que el corazón se relaje y se llene más completamente; (b) reducir la reaparición de disfunción diastólica en pacientes que previamente han padecido disfunción diastólica; y (c) reducir la reaparición de insuficiencia cardiaca y/o función cardiaca inadecuada en
- 20 pacientes que previamente han padecido disfunción diastólica.
- El tratamiento de la hipertensión pulmonar incluye uno o más de los siguientes (a) reducir la presión sanguínea en las arterias que abastecen a los pulmones a niveles más cercanos a lo normal para el individuo, o más cercanos a una presión deseada; (b) reducir la aparición de uno o más de agrandamiento de las venas en el cuello, agrandamiento del hígado, y edema generalizado en pacientes que padecen hipertensión pulmonar; (c) reducir el
- 25 empeoramiento de uno o más de agrandamiento de venas en el cuello, agrandamiento del hígado y edema generalizado en pacientes que padecen hipertensión pulmonar y sus síntomas; (d) reducir la reaparición de hipertensión pulmonar en pacientes que han padecido previamente hipertensión pulmonar; y (e) reducir la reaparición de uno o más de agrandamiento de venas en el cuello, agrandamiento del hígado y edema generalizado en pacientes que han padecido previamente hipertensión pulmonar.
- 30 La presente divulgación también incluye métodos para reducir la aparición de un trastorno de músculo cardiaco que comprende administrar a un individuo en riesgo de desarrollar bradiarritmia, bradicardia, insuficiencia cardiaca congestiva, miocardio aturcido, hipertensión pulmonar y disfunción diastólica una cantidad eficaz para aumentar la frecuencia contráctil del músculo cardiaco de uno o más polipéptidos de la invención o divulgados.
- 35 Por ejemplo, los métodos para reducir la aparición de insuficiencia cardiaca congestiva implican la administración de uno o más polipéptidos o composiciones de acuerdo con la presente invención a un sujeto que padece uno o más de hipertensión, anemia, hipertiroidismo, defecto de las válvulas cardiacas incluyendo pero sin limitación estenosis aórtica, insuficiencia aórtica e insuficiencia de la tricúspide; defectos cardiacos congénitos incluyendo pero sin
- 40 limitación coartación de la aorta, defectos del septo, estenosis pulmonar y tetralogía de Fallot; arritmias, infarto de miocardio, cardiomiopatía, hipertensión pulmonar y enfermedad pulmonar incluyendo pero sin limitación bronquitis crónica y enfisema.
- De forma similar, los métodos para reducir la aparición de bradiarritmia implican administración del o los polipéptidos
- 45 de la invención o divulgados a un sujeto que padece uno o más de enfermedad cardiaca coronaria y formación de ateroma, o que ha tenido previamente un infarto de miocardio o trastorno de conducción.
- De forma similar, los métodos para reducir la aparición de hipertensión pulmonar implican administración del o los
- 50 polipéptidos de la invención o divulgados a un sujeto que padece uno o más de bronquitis crónica, enfisema, embolia pulmonar y fibrosis pulmonar intestinal.
- La reducción de la aparición de miocardio aturcido implica la administración del o los polipéptidos de la invención o divulgados a un sujeto que padece isquemia cardiaca.
- 55 La reducción de la aparición de o tratamiento de disfunción diastólica implica la administración del o los polipéptidos de la invención o divulgados a un sujeto que padece hipertrofia ventricular izquierda.
- En otras divulgaciones, los métodos se usan para tratar o limitar la incidencia de la inducción de regeneración neuronal para lesiones del sistema nervioso central. Como se usa en el presente documento, "regeneración neural"
- 60 incluye tanto regenerar una conexión neural dañada, como promover un aumento de la función neural (incluyendo pero sin limitación el tratamiento de Alzheimer y neuropatía periférica); dicha regeneración neural puede estar en el sistema nervioso periférico o el sistema nervioso central. Sin quedar limitado a ningún mecanismo de acción específico, los inventores creen que la administración de los péptidos a un paciente que lo necesite evita o limita la actividad de la proteína rho, que se sabe que provoca colapso del cono del crecimiento; por lo tanto, la minimización
- 65 de la actividad de rho potencia el crecimiento de neuritas.

En otras divulgaciones, los métodos se usan para tratar o limitar la incidencia de gliosis (proliferación de astrocitos en áreas dañadas del sistema nervioso central). Los astrocitos son las células del tejido conectivo del SNC y tienen funciones que incluyen la acumulación en áreas con neuronas dañadas. La gliosis se produce durante cualquier lesión cerebral traumática, inserción de electrodos neurales y durante la lesión de la médula espinal, así como en diversos trastornos neurodegenerativos incluyendo pero sin limitación síndrome de Korsakoff y complejo de demencia del SIDA. Sin quedar limitado a ningún mecanismo de acción específico, los inventores creen que la administración de los péptidos a un paciente que lo necesite previene o limita la respuesta fibrótica de astrocitos y posiblemente microglía para inhibir la fibrosis.

En otras divulgaciones, los métodos se usan para tratar o limitar la incidencia de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), que es un grupo de enfermedades del tracto respiratorio caracterizadas por obstrucción o limitación del flujo de aire. La EPOC puede estar provocada por una diversidad de factores, incluyendo pero sin limitación consumo de tabaco (fumadores crónicos en riesgo), exposición a polvo de carbón (trabajadores de la industria de la minería del carbón particularmente en riesgo), defectos congénitos (incluyendo pero sin limitación deficiencia de antitripsina alfa-1), o puede ser idiopática (sin causa conocida). La EPOC incluye, pero sin limitación, bronquitis crónica y enfisema. Los síntomas característicos de EPOC (para cuyo tratamiento o reducción de su incidencia pueden usarse los métodos de la invención) incluyen, pero sin limitación, infecciones respiratorias recurrentes, tos grave, sibilancia constante, apnea con esfuerzo mínimo o descanso, hipoxia y producción excesiva de esputo.

Los polipéptidos de la invención o divulgados pueden usarse solos o junto con otros tratamientos para EPOC, incluyendo, broncodilatadores, antibióticos y esteroides orales o intravenosos.

En otras divulgaciones, los métodos se usan para tratar o limitar la incidencia de inflamación. Como se usa en el presente documento, la inflamación significa respuesta del sistema inmunitario a infección, irritación o asociada con cuerpos ajenos (introducción de biomateriales) en el cuerpo.

Los síntomas característicos de inflamación (para cuyo tratamiento o reducción de su incidencia pueden usarse los métodos de la invención) incluyen, pero sin limitación enrojecimiento, calor, hinchazón, dolor y disfunción de los órganos implicados. Los trastornos inflamatorios específicos que pueden tratarse, o cuya incidencia puede reducirse, por los métodos de la invención incluyen, pero sin limitación, asma, artritis (reumatoide o degenerativa), septicemia, choque endotoxémico, psoriasis, enteritis por radiación, esclerodermia, cirrosis, fibrosis intersticial, enfermedad de Crohn, apendicitis, gastritis, laringitis, meningitis, pancreatitis y otitis.

Sin quedar ligado a ningún mecanismo acción de específico, los inventores creen que la administración de los polipéptidos de la invención o divulgados a un paciente que necesite un tratamiento antiinflamatorio suprime la respuesta a citocinas inflamatorias incluyendo, pero sin limitación, TGF β 1.

En todas las divulgaciones anteriores de los métodos terapéuticos de la invención, los polipéptidos de la invención pueden usarse como el único agente activo, o pueden combinarse con uno o más tratamientos adicionales para la indicación, como se determina por un médico tratante.

Como se usa en el presente documento para todos los métodos una "cantidad eficaz" del o los polipéptidos es una cantidad que es suficiente para proporcionar el beneficio de tratamiento pretendido. Una cantidad eficaz de los polipéptidos que pueden emplearse varía generalmente entre aproximadamente 0,01 μ g/kg de peso corporal y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, variando preferentemente entre aproximadamente 0,05 μ g/kg y aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal. Sin embargo, los niveles de dosificación se basan en una diversidad de factores, incluyendo el tipo de lesión, la edad, el peso, sexo, la condición médica del individuo, la gravedad de la afección, la vía de administración y el compuesto particular empleado. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse rutinariamente por un médico usando métodos convencionales.

La presente invención puede entenderse mejor con referencia a los ejemplos adjuntos que se pretende que sean solamente para fines de ilustración.

Ejemplo

Ejemplo 1 Mutagénesis de exploración de alanina y aminoácidos

Los dominios terapéuticos y de transducción de péptidos se optimizaron para maximizar la especificidad e inhibición de MK2. En primer lugar, para entender mejor la importancia de cada aminoácido en la inhibición de MK2, se realizaron exploraciones de alanina y aminoácidos de la secuencia terapéutica del inhibidor de MK2. Usando el Ensayo de Lisado Omnia TM para el kit MAPKAP-K2 de Invitrogen, se determinó la velocidad de reacción para MK2 en presencia y ausencia de cada uno de los péptidos enumerados en la Tabla 1. Brevemente, se evaluaron las concentraciones de péptido inhibidor a 12,5, 25, 50 y 100 μ mol. El kit contiene un tampón de reacción patentado al que se añade lo siguiente (se proporcionan las concentraciones finales): ATP 1 mM, DTT 0,2 mM, sustrato peptídico modificado por Sox MAPKAP-K2 10 μ M, 5 ng de MK2 y el inhibidor peptídico de interés (volumen final de 50 μ l). Las

reacciones se realizaron en los pocillos de una placa de 96 pocillos de unión a proteína baja proporcionada con el kit, y se tomaron lecturas de fluorescencia cada 30 segundos durante 20 minutos en un Espectrofotómetro M5 de Molecular Devices. Las velocidades de reacción para una concentración inhibidora de MK2 de 100 μ M se muestran en la Tabla 2 y son representativas de tendencias a diferentes concentraciones.

5 Los resultados de este estudio muestran varias optimizaciones posibles y dilucidan los aminoácidos que son más cruciales para la función de este péptido. En primer lugar, la alanina C-terminal no potencia la inhibición de MK2. Retirar una alanina dará como resultado una pequeña optimización del coste. Además, las exploraciones tanto de aminoácido d como de alanina muestran que la asparagina no es crucial para la inhibición de MK2.

10

Tabla 1: Evaluación de Secuencia Inhibidora de MK2 – La Importancia de cada Aminoácido

Controles	Exploración de alanina	Exploración de aminoácidos d
KALNRQLGVA	KALNRQLGVAA	KdALNRQLGVAA
KKKALNRQLGVAA	KAANRQLGVAA	KAdLNRQLGVAA
(WLRRIKA) ₂ LNRQLGVAA	KALARQLGVAA	KALdNRQLGVAA
	KALNAQLGVAA	KALNdRQLGVAA
	KALNRALGVAA	KALNRdQLGVAA
	KALNRQAGVAA	KALNRQdLGVAA
	KALNRQLAVAA	
	KALNRQLGAAA	KALNRQLGdVAA

* = Control para determinar el requisito de la A final; # = Control para determinar la importancia de las K iniciales

Tabla 2:

Velocidades de reacción para Variantes de Inhibidores de MK2 (n =3)	
Secuencia Peptídica	% de KALNRQLGVAA Velocidad de reacción a una concentración de inhibidor de 100 μ M (+/- ETM*)
KALNRQLGVAA	100 % (+/- 3 %)
KALNRQLGVA	100 % (+/- 3 %)
KAANRQLGVAA	152 % (+/- 3 %)
KALARQLGVAA	39 % (+/- 1 %)
KALNAQLGVAA	358 % (+/- 8 %)
KALNRALGVAA	358 % (+/- 15 %)
KALNRQAGVAA	118 % (+/- 4 %)
KALNRQLAVAA	72 % (+/- 3 %)
KALNRQLGAAA	373 % (+/- 13 %)
KAdLNRQLGVAA	146 % (+/- 4 %)
KALdNRQLGVAA	95 % (+/- 6 %)
KALNdRQLGVAA	306 % (+/- 4 %)
KALNRdQLGVAA	276 % (+/- 3 %)
KALNRQdLGVAA	357 % (+/- 10 %)
KALNRQLGdVAA	260 % (+/- 14 %)
KKKALNRQLGVAA	91 % (+/- 4 %)

* ETM = Error típico de la media para tres valores

15 De hecho, el reemplazo de la asparagina con una alanina puede potenciar la inhibición de MK2 y dará como resultado un pequeño ahorro de costes. La Tabla 2 indica que la sustitución de la glicina por alanina aumenta ligeramente la inhibición. Adicionalmente, estos resultados muestran que la esteroquímica es importante para la función peptídica inhibidora. Ninguna sustitución de aminoácidos d potenció significativamente la inhibición de MK2, y la mayoría de las sustituciones redujeron en gran medida la eficacia del péptido inhibidor de MK2. La exploración de alanina también muestra la importancia de varios aminoácidos. De acuerdo con esta exploración de alanina, la arginina, glutamina y valina son absolutamente necesarias para la inhibición de MK2. Aunque las dos leucinas son aminoácidos menos importantes, su retirada aún reduce la eficacia del péptido inhibidor.

20

REIVINDICACIONES

1. Un vehículo polipéptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos YARAAARQARAKALARQLGVAA.
- 5 2. Un dispositivo biomédico que comprende el polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1 dispuesto en o sobre dicho dispositivo biomédico.
3. El dispositivo biomédico de acuerdo con la reivindicación 2, seleccionándose dicho dispositivo biomédico de la lista que consiste en: una endoprótesis vascular, un injerto, un shunt, un injerto de endoprótesis vascular, un
10 dispositivo de angioplastia, un catéter de globo, una fístula, un apósito y un dispositivo de suministro farmacológico implantable.
4. Una composición que comprende el polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.