

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 792**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

A61P 25/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2009** **E 09783680 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2015** **EP 2337576**

54 Título: **Tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad**

30 Prioridad:

03.10.2008 EP 08305636

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.11.2015

73 Titular/es:

UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE (PARIS 6)
(50.0%)
4, Place Jussieu
75005 Paris, FR y
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS) (50.0%)

72 Inventor/es:

CABOCHE, JOCELYNE;
TZAVARA, ELENI;
VANHOUTTE, PETER y
GIROS, BRUNO

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 550 792 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

Tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad

Campo de la invención

5 La invención se refiere al uso de inhibidores selectivos de la activación de Elk-1 y MSK-1 para el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad.

Antecedentes de la invención

10 La depresión es una enfermedad común, perturbadora de la vida, potencialmente mortal que puede afectar a ambos sexos y a todas las edades, y que se caracteriza por la tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o baja autoestima, sueño o apetito perturbados, baja energía y falta de concentración. Estos problemas pueden llegar a ser crónicos o recurrentes, afectando sustancialmente a la capacidad de un individuo para hacer frente a la vida cotidiana. En su forma más severa, la depresión puede conducir al suicidio. Por lo tanto la depresión mayor no tratada sigue siendo un grave problema de salud pública y sus incidencias son asombrosas.

15 Los costes económicos para la sociedad, y los costes personales para los individuos y las familias, asociados con la depresión son enormes. En un período de 15 meses después de haber sido diagnosticados de depresión, los pacientes tienen cuatro veces más probabilidades de morir que los que no tienen depresión. La Organización Mundial de la Salud estima que la depresión mayor es la cuarta causa más importante a nivel mundial de pérdida años de vida ajustados por discapacidad, y será la segunda causa más importante para 2020.

20 La depresión no tiene una sola causa; a menudo, es el resultado de una combinación de factores. Cualquiera que sea su causa, la depresión no es sólo un estado de ánimo. Está relacionada con cambios de larga duración en el cerebro, y está vinculada con un desequilibrio de un tipo de sustancias químicas que portan las señales en el cerebro y los nervios. Estas sustancias químicas se llaman neurotransmisores. Entre los neurotransmisores más importantes relacionados con la depresión están la serotonina (5-HT), la norepinefrina (NE) y la dopamina (DA). La serotonina juega un papel muy importante en los trastornos del estado de ánimo, especialmente en la ansiedad y la depresión, la agresión y la impulsividad.

25 La mayoría de los casos de depresión se pueden tratar con medicamentos o psicoterapia. Se encuentra disponible una variedad de agentes farmacológicos para el tratamiento de la depresión. Se ha logrado un éxito significativo mediante el uso de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI), tales como fluoxetina (PROZAC®), inhibidores de la recaptación de norepinefrina (NERI), inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina-norepinefrina combinadas (SNRI), inhibidores de la monoamino oxidasa (MAOI), inhibidores de la fosfodiesterasa-4 (PDE4) u otros compuestos. Sin embargo, incluso con estas opciones disponibles, muchos pacientes no responden, o responden sólo parcialmente al tratamiento. Adicionalmente, muchos de estos agentes muestran inicio de la actividad con retraso, por lo que los pacientes deben someterse a un tratamiento durante semanas o meses antes de recibir beneficios. La mayoría de los antidepresivos disponibles en la actualidad requieren 2-3 semanas o más para obtener una respuesta. Las terapias tradicionales también pueden tener efectos secundarios significativos. Por ejemplo, más de un tercio de los pacientes que toman SSRI experimentan disfunción sexual. Otros efectos secundarios problemáticos incluyen trastornos gastrointestinales, a menudo manifestados como náuseas y vómitos ocasionales, agitación, insomnio, aumento de peso, aparición de diabetes, prolongación del intervalo corregido de frecuencia cardíaca (QTc), agranulocitosis, etc. Los efectos secundarios a menudo desalientan a los pacientes de seguir su régimen terapéutico recomendado.

40 Por lo tanto, sigue existiendo una necesidad de desarrollar terapias mejoradas para el tratamiento de la depresión y/u otros trastornos del estado de ánimo y la ansiedad.

Compendio de la invención

Un objeto de la invención es un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad.

45 En una realización, dicho inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 es un péptido que comprende:

- al menos una secuencia de penetración en la célula, y
- al menos una secuencia de dominio de acoplamiento seleccionada del grupo del SEQ ID NO: 1 (SPAKLSFQFPSSGSAQVHI) y el SEQ ID NO: 2 (KGRKPRDLELPLSPSLL).

En otra realización, dicho inhibidor selectivo de la activación de MSK-1 es un péptido que comprende:

50 - al menos una secuencia de penetración en la célula, y

- una secuencia del dominio de interacción seleccionada del grupo del SEQ ID NO: 3 (KAPLAKRRKMKTSTSTE).

En otra realización, dicha secuencia de penetración celular se elige del grupo que comprende la secuencia de TAT de HIV (SEQ ID NO: 4); Penetratina (SEQ ID NO: 5); una secuencia de aminoácidos de 7 a 11 argininas (SEQ ID NO: 6 a 10); una secuencia X7/11R de 7 a 25 aminoácidos que comprende de 7 a 11 argininas colocadas al azar en la secuencia; o una secuencia derivada de DPV (SEQ ID NO: 15 a 19).

En otra realización, dicho inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 tiene la secuencia del SEQ ID NO: 28 o el SEQ ID NO: 29.

En otra realización, dicho inhibidor selectivo de la activación de MSK-1 tiene la secuencia del SEQ ID NO: 30.

- 10 Otro objeto de la invención es una composición farmacéutica para uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad, en donde dicha composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1.

En una realización, dicha composición farmacéutica comprende:

- a) al menos un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1;
- 15 b) un ácido nucleico que codifica un inhibidor peptídico de la activación de Elk-1 o MSK-1; o
- c) un vector de expresión que comprende dicho ácido nucleico.

Otro objeto de la invención es un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 o una composición farmacéutica como se ha descrito aquí anteriormente, para uso en el tratamiento de la depresión.

- 20 Otro objeto de la invención es un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 o una composición farmacéutica como se ha descrito aquí anteriormente, para su uso en el tratamiento de los trastornos del estado de ánimo y de ansiedad en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho uso la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un inhibidor peptídico selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 o una cantidad terapéutica de una composición farmacéutica como se ha descrito aquí anteriormente.

Descripción detallada de la invención

25 Definiciones

Según se utiliza en la presente memoria, el término "péptido" se refiere a una secuencia de aminoácidos que tiene menos de 100 aminoácidos. Según se utiliza en la presente memoria, el término "péptido" incluye secuencias de aminoácidos que tienen menos de 90 aminoácidos, menos de 80 aminoácidos, menos de 70 aminoácidos, menos de 60 aminoácidos, o menos de 50 aminoácidos. Preferiblemente, dicha secuencia de aminoácidos comprende 20, 21, 22, 23, 24, 25, ..., 50, ..., 75, ..., 100 aminoácidos.

- "Variantes conservativas de la función" según se utiliza en la presente memoria se refiere a aquellos péptidos en los que un residuo aminoácido dado de una proteína o enzima se ha cambiado (insertado, eliminado o sustituido) sin alterar la conformación global y la función del polipéptido. Tales variantes incluyen proteínas que tienen alteraciones de aminoácidos tales como delecciones, inserciones y/o sustituciones. Una "delección" se refiere a la ausencia de uno o más aminoácidos en la proteína. Una "inserción" se refiere a la adición de uno o más aminoácidos en la proteína. Una "sustitución" se refiere a la sustitución de uno o más aminoácidos por otro residuo de aminoácido en la proteína. Típicamente, un aminoácido dado se reemplaza por un aminoácido que tenga propiedades similares (tales como, por ejemplo, polaridad, potencial de enlace de hidrógeno, acidez, alcalinidad, carácter hidrófobo, carácter aromático y similares). Los aminoácidos distintos de los indicados como conservados pueden diferir en una proteína de modo que el porcentaje de similitud de la secuencia de proteína o aminoácidos entre dos proteínas de función similar puede variar y puede ser, por ejemplo, de 70% a 99% como se determina de acuerdo con un esquema de alineamiento tal como el Método Cluster, en el que la similitud se basa en el algoritmo MEGALIGN. Una "variante conservativa de la función" también incluye un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos de al menos 60%, determinada por los algoritmos BLAST o FASTA, preferiblemente al menos 75%, más preferiblemente al menos 85%, aún más preferiblemente al menos 90%, e incluso más preferiblemente al menos 95%, y que tiene las mismas o propiedades o funciones o propiedades o funciones sustancialmente similares a las de la proteína nativa o parental con la que se compara. Dos secuencias de aminoácidos son "sustancialmente homólogas" o "sustancialmente similares" cuando más de 80%, preferiblemente más de 85%, preferiblemente más de 90% de los aminoácidos son idénticos, o más de aproximadamente 90%, preferiblemente más de 95%, son similares (funcionalmente idénticos) a lo largo de toda la longitud de la secuencia más corta. Preferiblemente, las secuencias similares u homólogas se identifican por alineamiento utilizando, por ejemplo, el programa Pileup de GCG (Genetics Computer Group, Program Manual for the GCG Package, Versión 7, Madison, Wisconsin), o cualquiera de los algoritmos de comparación de secuencias, tales como BLAST, FASTA, etc.

Según se utiliza en la presente memoria, el término "tratar" un trastorno o una afección se refiere a revertir, aliviar o

inhibir el proceso de uno o más síntomas de tal trastorno o afección. El término "prevenir" un trastorno o afección se refiere a la prevención de uno o más síntomas de tal trastorno o afección.

Según se utiliza en la presente memoria, "trastorno del estado de ánimo" se refiere a la perturbación del tono o el estado emocional experimentado por un individuo durante un período de tiempo prolongado. Los trastornos del estado de ánimo incluyen, pero no se limitan a, trastorno de depresión mayor (es decir, trastorno unipolar), manía, disforia, trastorno bipolar, distimia, ciclotimia y muchos otros. Véase, p. ej., Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Cuarta Edición, (DSM IV).

Según se utiliza en la presente memoria, trastornos de ansiedad se refiere al estado emocional desagradable que comprende las respuestas psicofisiológicas a la anticipación del peligro irreal o imaginado, aparentemente como resultado de un conflicto intrapsíquico no reconocido. Los factores fisiológicos concomitantes incluyen aumento del ritmo cardíaco, alteración de la frecuencia respiratoria, sudoración, temblores, debilidad y fatiga; los factores psicológicos concomitantes incluyen sentimientos de peligro inminente, impotencia, temor y tensión. Los trastornos de ansiedad incluyen, pero no se limitan a, trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de estrés posttraumático, fobia social, trastorno de ansiedad social, fobias específicas, trastorno de ansiedad generalizada.

El "trastorno obsesivo compulsivo" u "OCD" es un trastorno de ansiedad que se caracteriza por obsesiones o compulsiones recurrentes suficientes para causar un notable malestar en el individuo. Éstas por lo general requieren mucho tiempo, y/o interfieren significativamente en el funcionamiento normal de la persona, en las actividades sociales o en las relaciones. Las obsesiones son ideas recurrentes, pensamientos, imágenes o impulsos que entran en la mente y son persistentes, intrusivos, y no deseados. A menudo, se intenta ignorar o suprimir los pensamientos, o neutralizarlos con otro pensamiento o acción. El individuo puede reconocer las obsesiones como un producto de su propia mente. Las compulsiones son comportamientos o movimientos voluntarios repetitivos realizados en respuesta a una obsesión, y por lo general están diseñados para neutralizar o prevenir el malestar o algún acontecimiento o situación temidos. Por ejemplo, una obsesión común se refiere a pensamientos de contaminación; el lavado de manos excesivo, repetitivo, y sin objetivo es una compulsión común.

"Trastorno de depresión mayor", "trastorno depresivo mayor" o "trastorno unipolar" se refieren a un trastorno del estado de ánimo que implica uno cualquiera de los siguientes síntomas: tristeza persistente, ansiedad o estado de ánimo "vacío"; sentimientos de desesperanza o pesimismo; sentimientos de culpa, inutilidad, o impotencia; pérdida de interés o placer en pasatiempos y actividades que antes se disfrutaban, incluyendo el sexo; disminución de la energía, fatiga, ser "más lento"; dificultad para concentrarse, recordar o tomar decisiones; insomnio, despertarse en la madrugada o dormir demasiado; pérdida de apetito y/o peso o comer en exceso y aumento de peso; pensamientos de muerte o suicidio o intentos de suicidio; inquietud o irritabilidad o síntomas físicos persistentes que no responden al tratamiento, tales como dolores de cabeza, trastornos digestivos y dolor crónico. Varios subtipos de depresión se describen, p. ej., en DSM IV.

"El trastorno bipolar" es un trastorno del estado de ánimo caracterizado por períodos alternantes de estados de ánimo extremos. Una persona con trastorno bipolar experimenta ciclos de estados de ánimo que suelen oscilar de intentar estar demasiado eufórico o irritable (manía) a triste y sin esperanza (depresión) y viceversa, con períodos intermedios de estado de ánimo normal. El diagnóstico del trastorno bipolar se describe, por ejemplo, en DSM IV. Los trastornos bipolares incluyen el trastorno bipolar I (manía con o sin depresión mayor) y el trastorno bipolar II (hipomanía con depresión mayor), véase, p. ej., DSM IV. Según se utiliza en la presente memoria, el término "sujeto" se refiere a un mamífero, tal como un roedor, un felino, un cánido y un primate. Preferiblemente, un sujeto de acuerdo con la invención es un ser humano.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" según se utiliza en la presente memoria está destinada a una cantidad mínima de agente activo que es necesaria para conferir un beneficio terapéutico a un sujeto. Por ejemplo, una "cantidad terapéuticamente eficaz del agente activo" para un sujeto es una cantidad de agente activo que induce, alivia o causa una mejora en los síntomas patológicos, el progreso de la enfermedad, o las condiciones físicas asociadas a la enfermedad que afecta al sujeto.

La invención

Recientemente, como la ruta de señalización MERK-ERK es susceptible de regulaciones ambientales y genéticas relevantes para la depresión, se investigó la provisión de dianas para el desarrollo de terapias novedosas. Sin embargo, los estudios con el inhibidor de MEK SL327 en la depresión han sido concluyentes, a veces con resultados opuestos (Duman et al., Biol Psychiatry 2007; Einat et al., J Neurosci, 2003). En contraste con Einat et al. que demuestran una acción antidepresiva similar después de la inhibición de la activación de ERK, el estudio de Duman, utilizando inhibidores de la activación de ERK, demostró que el bloqueo agudo de la señalización MERK-ERK produce un fenotipo de tipo depresivo en tres modelos de depresión. Los autores sugirieron por lo tanto que los fármacos que activan la ruta MERK-ERK deben producir una respuesta antidepresiva.

Mientras investigaban nuevos agentes farmacoterapéuticos para el tratamiento de la depresión, los autores de la presente invención postularon que un inhibidor de MEK (como SL327 y PD184161) utilizado anteriormente, era una herramienta no selectiva que no permitía la diferenciación entre los múltiples sustratos aguas abajo de ERK y por lo

tanto investigaron si un bloqueo de la regulación de genes mediada por ERK podría dar lugar o no a una respuesta antidepresiva.

La regulación de genes mediada por ERK es controlada principalmente por dos factores: Elk-1 y MSK-1. Elk-1 es un factor de transcripción presente en el núcleo, que regula la expresión génica a través de promotores con elementos de respuesta a suero (SRE). MSK-1 también regula la expresión génica a través de la fosforilación de la proteína de unión al elemento de respuesta de AMPc (CREB) y la histona H3 y por lo tanto la remodelación de la cromatina.

Los autores de la presente invención descubrieron sorprendentemente a continuación que un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1, que está implicado en la regulación de genes mediada por ERK, actúa como un agente antidepresivo y por lo tanto tiene un efecto sobre los trastornos del estado de ánimo y de ansiedad.

Otro objeto de la invención es un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de los trastornos de ansiedad y del estado de ánimo.

De acuerdo con la invención, dicho "inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1" se refiere a un inhibidor que inhibe específicamente la activación de Elk-1 o MSK-1, respectivamente, sin modificar la activación de ERK u otras dianas de ERK incluyendo p90rsk, sinapsina, PLP2a, Tirosina Hidroxilasa.

En una realización de la invención, dicho inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 es el compuesto 76 descrito por Hancock et al., Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 48(14): 4586-4595.

En una realización de la invención, dicho inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de los trastornos de ansiedad y del estado de ánimo es un péptido que comprende:

- al menos una secuencia de penetración en una célula, y

- al menos una secuencia de dominio de interacción seleccionada del grupo del SEQ ID NO: 1 (SPAKLSFQFPSSGSAQVHI) y del SEQ ID NO: 2 (KGRKPRDLELPLSPSLL).

En una realización de la invención, dicho inhibidor selectivo de la activación de MSK-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos ansiedad y del estado de ánimo es un péptido que comprende:

- al menos una secuencia de penetración en una célula, y

- una secuencia de dominio de interacción seleccionada del grupo del SEQ ID NO: 3 (KAPLAKRRKMKKTSTSTE).

Dichos inhibidores peptídicos de la activación de Elk-1 o MSK-1 se describen en el documento WO2006/087242.

En una realización de la invención, dicha secuencia de penetración en una célula se selecciona del grupo que comprende la secuencia TAT de VIH (SEQ ID NO: 4); Penetratina (SEQ ID NO: 5); una secuencia de aminoácidos de 7 a 11 argininas (SEQ ID NO: 6 a 10); una secuencia X7/11R en donde dicha secuencia es una secuencia de 7 a 25 aminoácidos, preferiblemente una secuencia de 7 a 20 aminoácidos, que comprende de 7 al 11 argininas colocadas al azar en la secuencia; o una secuencia derivada de Vectocell® (o vectores peptídicos Diatos: DPV) como secuencias de penetración en células descritas en De Coupade et al. Biochem J (2005) 390, 407-418 y el documento WO01/64738.

Los ejemplos de las secuencias X7/11R y de las secuencias DPV se proporcionan en la siguiente tabla.

SEQ ID NO: 4	GRKKRRQRRR	TAT de VIH
SEQ ID NO: 5	RQIKIWFQNRRMKWKK	Penetratina
SEQ ID NO: 6	RRRRRRR	7R
SEQ ID NO: 7	RRRRRRRR	8R
SEQ ID NO: 8	RRRRRRRRR	9R

SEQ ID NO: 9	RRRRRRRRRR	10R
SEQ ID NO: 10	RRRRRRRRRR	11R
SEQ ID NO: 11	XRRRRRRR	X7R (ejemplo)
SEQ ID NO: 12	RRRRRRRX	X7R (otro ejemplo)
SEQ ID NO: 13	XRRRRRRRX	X7R (otro ejemplo)
SEQ ID NO: 14	XRRRRRRXRRRRRX	X11R (otro ejemplo)
SEQ ID NO: 15	GAYDLRRRERQSRLRRRERQSR	DPV15b
SEQ ID NO: 16	SRRARRSPRHLGSG	DPV10
SEQ ID NO: 17	LRRERQSRLRRRERQSR	DPV15
SEQ ID NO: 18	VKRGLKLRHVRPRVTRMDV	DPV1047
SEQ ID NO: 19	RKKRRRESRKKRRRES	DPV3

En una realización de la invención, la secuencia de penetración en la célula y el dominio de interacción de los inhibidores peptídicos de la invención pueden estar conectados por acoplamiento químico de cualquier manera adecuada conocida en la técnica.

- 5 Una forma de aumentar la especificidad del acoplamiento consiste en acoplar directamente grupos funcionales químicamente encontrados solamente una vez o unas pocas veces en uno o ambos polipéptidos que van a ser entrecruzados. Por ejemplo, en muchas proteínas, la cisteína, que es el único aminoácido de la proteína que contiene un grupo tiol, se presenta solamente unas pocas veces. También, por ejemplo, si un polipéptido no contiene residuos de lisina, un reactivo de entrecruzamiento específico para aminas primarias será selectivo para el extremo amino terminal de ese polipéptido. La utilización satisfactoria de este enfoque para aumentar la especificidad de acoplamiento requiere que el polipéptido tenga residuos adecuadamente raros y reactivos en las zonas de la molécula que pueden ser alteradas sin pérdida de actividad biológica de la molécula. Los residuos de cisteína pueden ser reemplazados cuando se presentan en partes de una secuencia de polipéptidos en las que su participación en una reacción de entrecruzamiento interferiría de lo contrario probablemente en la actividad biológica.
- 10 Cuando un residuo de cisteína se sustituye, es típicamente deseable minimizar los cambios resultantes en el plegamiento del polipéptido. Los cambios en el plegamiento del polipéptido se minimizan cuando la sustitución es química y estéricamente similar a la cisteína. Por estas razones, se prefiere la serina como reemplazo para la cisteína. Como se demuestra en los ejemplos de más abajo, se puede introducir un residuo de cisteína en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido para los propósitos de entrecruzamiento. Cuando se introduce un residuo de cisteína, se prefiere la introducción en o cerca del extremo amino o carboxi terminal. Se encuentran disponibles métodos convencionales para dichas modificaciones de las secuencias de aminoácidos, si el polipéptido de interés es producido por síntesis química o por expresión de ADN recombinante.
- 15
- 20

El acoplamiento de los dos constituyentes se puede realizar a través de un agente de acoplamiento o de conjugación. Los reactivos de entrecruzamiento intermoleculares que se pueden utilizar son conocidos en la técnica. Entre estos reactivos están, por ejemplo, 3-(2-piridilditio)propionato de J-succinimidilo (SPDP) o N,N'-(1,3-fenilen)-bismaleimida (ambos son altamente específicos para grupos sulfhidrilo y forman enlaces irreversibles); N,N'-etilen-

25

bis-(yodoacetamida) u otro reactivo semejante que tenga de 6 a 11 puentes de carbono metilénicos (cuyos grupos forosulfhidrido son relativamente específicos); y 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno (que forma enlaces irreversibles con grupos amino y tirosina). Otros reactivos de entrecruzamiento útiles para este propósito incluyen: p,p'-difluoro-m,m'-dinitrodifenilsulfona (que forma entrecruzamientos irreversibles con grupos amino y fenólicos); adipimidato de dimetilo (que es específico para grupos amino); cloruro de fenol-1,4-disulfonilo (que reacciona principalmente con grupos amino); diisocianato o diisotiocianato de hexametileno, o p-diisocianato de azofenilo (que reacciona principalmente con grupos amino); glutaraldehído (que reacciona con varias cadenas laterales diferentes) y disdiazobenzidina (que reacciona principalmente con tirosina e histidina). Los reactivos de entrecruzamiento pueden ser homobifuncionales, esto es, que tienen dos grupos funcionales que experimentan la misma reacción. Un reactivo de entrecruzamiento homobifuncional preferido es el bismaleimidohexano ("BMH"). El BMH contiene dos grupos funcionales maleimida, que reaccionan específicamente con compuestos que contienen sulfhidrido en condiciones suaves (pH de 6,5 a 7,7). Los dos grupos maleimida están conectados por una cadena hidrocarbonada. Por lo tanto, el BMH es útil para el entrecruzamiento irreversible de polipéptidos que contienen residuos de cisteína. Los reactivos de entrecruzamiento también pueden ser heterobifuncionales. Los agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales tienen dos grupos funcionales diferentes, por ejemplo un grupo reactivo con amino y un grupo reactivo con tiol, que entrecruzarán dos proteínas que tengan aminas y tioles libres, respectivamente. Los ejemplos de agentes de entrecruzamiento heterobifuncionales son 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo ("SMCC"), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida ("MBS"), y 4-(p-maleimidofenil)butirato de succinimida ("SMPB"), un análogo de cadena ampliada de MBS. El grupo succinimidilo de estos agentes de entrecruzamiento reacciona con una amina primaria, y la maleimida reactiva con tiol forma un enlace covalente con el tiol de un residuo de cisteína.

Los reactivos de entrecruzamiento a menudo tienen una baja solubilidad en agua. Un radical hidrófilo, tal como un grupo sulfonato, se puede añadir al reactivo de entrecruzamiento para mejorar su solubilidad en agua. Sulfo-MBS y sulfo-SMCC son ejemplos de reactivos de entrecruzamiento modificados para la solubilidad en agua.

Muchos reactivos de entrecruzamiento producen un producto conjugado que es esencialmente no escindible en condiciones celulares. Sin embargo, algunos reactivos de entrecruzamiento contienen un enlace covalente, tal como un disulfuro, que es escindible en condiciones celulares. Por ejemplo, el reactivo de Traut, el ditiobis (propionato de succinimidilo) ("DSP"), y el 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo ("SPDP") son entrecruzadores escindibles bien conocidos. El uso de un reactivo de entrecruzamiento escindible permite que el radical de carga se separe del polipéptido de transporte después de la liberación en la célula diana. El enlace disulfuro directo también puede ser útil.

El entrecruzamiento químico puede incluir el uso de brazos espaciadores. Los brazos espaciadores proporcionan flexibilidad intramolecular o distancias intramoleculares de ajuste entre radicales conjugados y por lo tanto pueden ayudar a preservar la actividad biológica. Un brazo espaciador puede estar en la forma de un radical polipeptídico que incluye aminoácidos espaciadores, p. ej., prolina. Por ejemplo, dicho espaciador comprende una o más prolinas, preferiblemente 2, 3 ó 4 prolinas.

Alternativamente, un brazo espaciador puede ser parte del reactivo de entrecruzamiento, tal como en "SPDP de cadena larga".

En otra realización de la invención, dicho inhibidor peptídico selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 comprende además una secuencia señal de localización nuclear (NLS) y/o una secuencia de secuencia de exportación nuclear (NES).

Dichas secuencias NLS y NES son bien conocidas en la técnica y comprenden de 2 a 20 aminoácidos, preferiblemente 3, 4, 5, ..., 18, 19 ó 20 aminoácidos.

En una realización, dichas secuencias NLS y NES se seleccionan de la siguiente tabla.

	Secuencia NLS	origen
SEQ ID NO: 20	PKKKRKV	Antígeno T grande de SV40
SEQ ID NO: 21	KRPAAIKKAGQAKKKK	Nucleoplasmina
SEQ ID NO: 22	RQARRNRNRNRNRWR	HIV1Rev
SEQ ID NO: 4	GRKKRRQRRR	HIV-TAT
SEQ ID NO: 5	RQIKIWFQNRRMKWKK	Penetratina

	Secuencia NLS	origen
SEQ ID NO: 6	RRRRRRR	7R
SEQ ID NO: 7	RRRRRRRR	8R
SEQ ID NO: 8	RRRRRRRRR	9R
SEQ ID NO: 9	RRRRRRRRRR	10R
SEQ ID NO: 10	RRRRRRRRRRR	11R
	Secuencia NES	
SEQ ID NO: 23	XLXXLXXLXLX	Consenso tipo Elk-1
SEQ ID NO: 24	XLXXLXXLXRX	Consenso tipo Net
SEQ ID NO: 25	ALQKKLEEEELD	MAPKK
SEQ ID NO: 26	TLWQFLLQLLLD	Net
SEQ ID NO: 27	TLWQFLLQLLRE	Elk-1

En otra realización, el inhibidor peptídico de la activación de Elk-1 o MSK-1 comprende además un sitio de escisión enzimática, lo que permite la escisión en una célula entre la secuencia de penetración celular y el resto de la secuencia del inhibidor peptídico.

- 5 En una realización, dicho sitio de escisión enzimática comprende dos residuos de cisteína consecutivos, lo que permite la disociación intracelular por el glutatión citoplásmico.

En una realización de la invención, dicho inhibidor peptídico selectivo de la activación de Elk-1 tiene la secuencia del SEQ ID NO: 28 (GRKKRRQRRPPSPAKLSFQFPSSGSAQVHI).

- 10 En una realización de la invención, dicho inhibidor peptídico selectivo de la activación de Elk-1 tiene la secuencia del SEQ ID NO: 29 (GRKKRRQRRPPKGRKPRDLELPLSPSLL).

En una realización de la invención, dicho inhibidor peptídico de la activación de MSK-1 tiene la secuencia del SEQ ID NO: 30 (GRKKRRQRRPPKAPLAKRRKMKKTSTSTE).

- 15 Típicamente, la invención abarca péptidos sustancialmente idénticos a los inhibidores peptídicos de la invención en los que uno o más residuos han sido sustituidos conservativamente por un residuo funcionalmente similar y que muestra los aspectos funcionales de los inhibidores peptídicos de la invención como se ha descrito aquí anteriormente, es decir, siendo todavía capaz de inhibir la activación de Elk-1 o MSK-1 sustancialmente de la misma manera que los inhibidores peptídicos como se ha descrito aquí anteriormente.

- 20 Los ejemplos de las sustituciones conservativas incluyen la sustitución de un residuo no polar (hidrófobo) tal como isoleucina, valina, leucina o metionina por otro, la sustitución de un residuo polar (hidrófilo) por otro tal como entre arginina y lisina, entre glutamina y asparragina, entre glicina y serina, la sustitución de un residuo alcalino tal como lisina, arginina o histidina por otro, o la sustitución de un residuo ácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico u otro.

- 25 El término "sustitución conservativa" también incluye el uso de un residuo químicamente derivatizado en lugar de un residuo no derivatizado. "Derivado químico" se refiere a un péptido sujeto que tiene uno o más residuos químicamente derivatizados por reacción de un grupo lateral funcional. Los ejemplos de tales moléculas derivatizadas incluyen por ejemplo, aquellas moléculas en las que los grupos amino libres han sido derivatizados para formar hidroclouros de amina, grupos p-toluenosulfonilo, grupos carbobenzoilo, grupos t-butiloxycarbonilo, grupos cloroacetilo o grupos formilo. Los grupos carboxilo libres se pueden derivatizar para formar sales, ésteres de metilo y etilo u otros tipos de ésteres o hidrazidas. Los grupos hidroxilo libres se pueden derivatizar para formar derivados O-acilados u O-alquilados. El nitrógeno del imidazol de la histidina se puede derivatizar para formar N-im-
- 30

bencilhistidina. Los derivados químicos también incluyen péptidos que contienen uno o más derivados de aminoácidos de origen natural de los veinte aminoácidos convencionales. Por ejemplo: la 4-hidroxiprolina se puede sustituir por prolina; la 5-hidroxilisina se puede sustituir por lisina; la 3-metilhistidina se puede sustituir por histidina; la homoserina se puede sustituir por serina; y la ornitina se puede sustituir por lisina.

- 5 En una realización de la invención, el péptido inhibidor de la activación de Elk-1 o MSK-1 consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con el SEQ ID NO: 28 a 30 o una variante del mismo.

De acuerdo con la invención, "que consiste esencialmente en" significará que un péptido de acuerdo con la presente invención, además de la secuencia de acuerdo con cualquiera de los SEC ID NO: 28 a 30 o una variante de la misma, contiene tramos de aminoácidos adicionales localizados N y/o C terminalmente que no están necesariamente formando parte del péptido que funciona como una secuencia central del péptido que comprende el motivo de unión y como un epítipo inmunogénico.

En una realización, la invención también abarca una sal de péptido de la invención. El término "sal" incluye sales de adición de ácido que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. El término también incluye sales de adición de álcali que se forman a partir de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, sodio, potasio, amonio y calcio, y de bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, y similares.

En una realización de la invención, los aminoácidos que componen los inhibidores peptídicos son enantiómeros L. En otra realización de la invención, uno o más aminoácidos de la secuencia del péptido pueden ser reemplazados por su enantiómero D. En otra realización de la invención, el inhibidor peptídico es una versión retro-inversa toda D de la secuencia peptídica. Los inhibidores peptídicos de la invención pueden ser polímeros de L-aminoácidos, D-aminoácidos, o una combinación de ambos. Por ejemplo, los péptidos son péptidos retro-inversos D. El término "isómero retro-inverso" se refiere a un isómero de un péptido lineal en el que se invierte la dirección de la secuencia y se invierte la quiralidad de cada residuo de aminoácido. El resultado neto de la combinación de enantiómeros D y la síntesis inversa es que se intercambian las posiciones de los grupos carbonilo y amino en cada enlace amida, mientras que se conserva la posición de los grupos de cadena lateral en cada carbono alfa. Salvo que se indique específicamente lo contrario, se presume que cualquier secuencia de L-aminoácidos dada de la invención se puede volver un péptido retro-inverso D sintetizando un inverso de la secuencia para la correspondiente secuencia de L-aminoácidos nativa.

Dicho de inhibidor peptídico de la activación de Elk-1 o MSK-1 se puede obtener mediante mecanismos convencionales conocidos en la técnica. Por ejemplo, dichos inhibidores peptídicos se pueden obtener por síntesis química, tal como síntesis en fase sólida o síntesis en fase líquida convencionales. Resulta adecuada la síntesis en fase sólida usando Boc (t-butiloxicarbonilo) o Fmoc (9-fluorenilmetoxicarbonilo) como grupo protector de amino.

Dichos inhibidores peptídicos también se pueden biosintetizar por medio de métodos de ingeniería genética. Este enfoque es adecuado cuando se producen polipéptidos con cadenas de péptidos relativamente largas. Es decir, el ADN se sintetiza con una secuencia de nucleótidos (incluyendo un codón de iniciación ATG) que codifica la secuencia de aminoácidos del péptido inhibidor deseado. Un vector recombinante que tiene un constructo de expresión génica que consiste en este ADN, junto con los diversos elementos reguladores (incluyendo promotores, sitios de unión al ribosoma, terminadores, intensificadores, y diversos elementos en cis para el control del nivel de expresión) que se requieren para la expresión de la secuencia de aminoácidos en las células anfitrionas se construye a continuación de acuerdo con las células anfitrionas. Una técnica común consiste en introducir este vector recombinante en células anfitrionas específicas (tales como células de levadura, células de insecto, células vegetales, células bacterianas o células animales (de mamífero)), y después cultivar estas células anfitrionas, o un tejido u organismo que contiene estas células, en condiciones específicas. De esta manera, el polipéptido diana puede ser expresado y producido en las células. El polipéptido se aísla y se purifica a continuación de las células anfitrionas (o a partir del medio si se excreta) para obtener de ese modo el inhibidor peptídico deseado. Se pueden adoptar los métodos utilizados convencionalmente en la técnica para la construcción del vector recombinante y la introducción del vector construido en las células anfitrionas. Por ejemplo, se puede utilizar un sistema de expresión de proteínas fusionadas con el fin de lograr una producción eficiente, de alto volumen en células anfitrionas. Es decir, se sintetiza químicamente un gen (ADN) que codifica la secuencia de aminoácidos del péptido inhibidor, y este ADN sintético se introduce en un sitio adecuado en un vector de expresión de la proteína fusionada adecuado (por ejemplo, un vector de expresión de proteína fusionada con GST (glutación S-transferasa) tal como un vector de la serie Novagen pET o de la serie Amersham Biosciences pGEX). Las células anfitrionas (típicamente *E. coli*) son transformadas a continuación con este vector. El transformante resultante se cultiva para preparar la proteína fusionada diana. La proteína se extrae y se purifica. La proteína fusionada purificada resultante se escinde con una enzima específica (proteasa), y el fragmento del péptido diana liberado es recogido mediante un método tal como cromatografía de afinidad. El péptido inhibidor de la invención se puede producir utilizando semejante sistema de expresión de la proteína fusionada convencional (usando por ejemplo un sistema GST/His de Amersham Biosciences). Alternativamente, se puede construir el ADN molde (es decir, un fragmento de ADN sintético que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos del péptido inhibidor) para un sistema de síntesis de proteínas libre de células, y el polipéptido diana se puede sintetizar in vitro por medio de un sistema de síntesis de proteínas libre de células usando varios compuestos (ATP, ARN polimerasa, aminoácidos,

etc.) necesarios para la síntesis de péptidos.

Las secuencias de ácido nucleico que codifican los inhibidores peptídicos de la activación de Elk-1 o MSK-1 como se ha descrito aquí anteriormente se pueden obtener por cualquier método conocido en la técnica (p. ej., mediante amplificación por PCR usando cebadores sintéticos hibridables con los extremos 3' y 5' de la secuencia y/o mediante clonación a partir de una biblioteca de ADNc o genómico utilizando una secuencia de oligonucleótidos específica para la secuencia génica dada).

Los vectores de expresión también se proporcionan para la expresión recombinante de uno o más inhibidores peptídicos de la activación de Elk-1 o MSK-1 como se definió anteriormente. El término "vector de expresión" se utiliza en la presente memoria para designar ADN o ARN circular o lineal, que es o bien de doble hebra o bien de hebra sencilla. Adicionalmente comprende al menos un ácido nucleico como se ha descrito aquí anteriormente para ser transferido a una célula anfitriona o a un organismo anfitrión unicelular o multicelular. El vector de expresión comprende preferiblemente un ácido nucleico que codifica uno o más inhibidores peptídicos de la activación de Elk-1 o MSK-1 como se ha definido anteriormente, o una variante funcionalmente conservativa del mismo. Adicionalmente, un vector de expresión de acuerdo con la presente invención comprende preferiblemente elementos apropiados para el apoyo de la expresión que incluyen diversos elementos reguladores, tales como intensificadores/promotores de fuentes virales, bacterianas, vegetales, de mamífero, y de otras fuentes eucarióticas que dirigen la expresión del polinucleótido insertado en células anfitrionas, tales como aisladores, elementos de contorno, o de anclaje a la matriz/armazón. En algunas realizaciones, los elementos reguladores son heterólogos (es decir, distintos del promotor del gen nativo). Alternativamente, también se pueden suministrar señales de transcripción y traducción necesarias por medio del promotor nativo para los genes y/o sus regiones flanqueantes.

El término "promotor" tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una región de ADN que funciona controlando la transcripción de una o más secuencias de ácido nucleico de la invención, y que se identifica estructuralmente por la presencia de un sitio de unión para la ADN-polimerasa dependiente de ARN y de otras secuencias de ADN, que interaccionan para regular la función del promotor. Un fragmento promotor de la expresión funcional es una secuencia promotora acortada o truncada que retiene la actividad como promotor. La actividad promotora se puede medir por medio de cualquier análisis conocido en la técnica.

Una "región intensificadora" según se usa en la presente memoria, se refiere típicamente a una región de ADN que funciona aumentando la transcripción de uno o más genes. Más específicamente, el término "intensificador", según se utiliza en la presente memoria, es un elemento regulador de ADN que intensifica, aumenta, perfecciona, o mejora la expresión de un gen con independencia de su ubicación y orientación con respecto al gen que se va a expresar, y puede estar intensificando, incrementando, perfeccionando, o mejorando la expresión de más de un promotor. Las secuencias promotoras/intensificadoras definidas anteriormente para el vector de expresión de la invención, pueden utilizar secuencias reguladoras vegetales, animales, de insecto, o fúngicas. Por ejemplo, se pueden utilizar elementos promotores/potenciadores de levadura y otros hongos (p. ej., el promotor de GAL4, el promotor de la alcohol deshidrogenasa, el promotor de fosfoglicerol quinasa, el promotor de la fosfatasa alcalina, el promotor de la enolasa específica de las neuronas, la calcio calmodulina quinasa II, el promotor DARPP32, el promotor de Nestina, el promotor vGlut1, el promotor GAD, el promotor del receptor de serotonina (1-5)). Alternativamente, o además, pueden incluir regiones de control de la transcripción de animales.

Adicionalmente, el vector de expresión puede comprender un marcador de amplificación. Este marcador de amplificación se puede seleccionar del grupo que consiste en, p. ej., adenosina desaminasa (ADA), dihidrofolato reductasa (DHFR), gen de resistencia a múltiples fármacos (MDR), ornitina descarboxilasa (ODC) y resistencia a N-(fosfonacetil)-L-aspartato (CAD). Los vectores de expresión ilustrativos o sus derivados adecuados para la invención incluyen en particular, p. ej., virus humanos o animales (p. ej., retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociados, virus herpes, virus vaccinia, poxvirus, poliovirus; lentivirus); virus de insectos (p. ej., baculovirus); vectores de levadura; vectores bacteriófagos (p. ej., fago lambda); vectores plasmídicos tales como pcDNA3 y vectores cosmídicos. Los vectores de expresión preferidos adecuados para la invención son los vectores adenovirales tales como vectores adenovirales dependientes de coadyudantes y vectores lentivirales.

Otro objeto de la invención es una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad.

Otro objeto de la invención es el uso de al menos un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir y/o tratar los trastornos del estado de ánimo y de ansiedad.

En una realización de la invención, dicha composición farmacéutica comprende:

- a) al menos un inhibidor peptídico selectivo como se ha descrito aquí anteriormente;
- b) un ácido nucleico que codifica dicho péptido como se ha descrito aquí anteriormente; o
- c) un vector de expresión que comprende dicho ácido nucleico como se ha descrito aquí anteriormente.

En una realización de la invención, los trastornos del estado de ánimo comprenden el trastorno de depresión mayor (es decir, trastorno unipolar), manía, disforia, trastorno bipolar, distimia, y ciclotimia. En una realización de la invención, los trastornos de ansiedad incluyen trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de estrés postraumático, fobia social, trastorno de ansiedad social, fobias específicas, trastorno de ansiedad generalizada.

En otra realización de la invención, el inhibidor peptídico de la invención o la composición farmacéutica de la invención son para la prevención y/o el tratamiento de la depresión.

La depresión mayor se caracteriza por depresiones clínicamente significativas del estado de ánimo y el deterioro del funcionamiento como sus manifestaciones clínicas primarias. Sus manifestaciones clínicas y el tratamiento actual se solapan con los trastornos de ansiedad incluyendo el síndrome de pánico-agorafobia, fobias graves, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de ansiedad social, trastornos de estrés postraumático y trastorno obsesivo-compulsivo. Los extremos del estado de ánimo pueden estar asociados con la psicosis, se manifiestan como pensamientos y percepciones desordenados o delirantes, a menudo congruentes con el estado de ánimo predominante. La depresión a menudo está acompañada de trastornos de ansiedad y, cuando lo hace, también tiene que ser tratada. Los síntomas de la depresión incluyen sentimientos de tristeza, desesperanza, cambios en el apetito o el sueño, poca energía y dificultad para concentrarse. La mayor parte de las personas con depresión se pueden tratar eficazmente con medicamentos antidepresivos, ciertos tipos de psicoterapia, o una combinación de ambos.

Los trastornos depresivos se expresan en diferentes formas: La depresión mayor se manifiesta por una combinación de síntomas que interfieren con la capacidad para trabajar, estudiar, dormir, comer y disfrutar de actividades que antes eran placenteras. Tal episodio incapacitante de la depresión puede producirse sólo una vez, pero con mayor frecuencia se produce varias veces en la vida.

Un tipo menos severo de depresión, la distimia, implica síntomas crónicos, a largo plazo, que no inhabilitan, pero que impiden un funcionar bien o sentirse bien. Muchas personas con distimia también experimentan episodios de depresión mayor en algún momento de sus vidas.

Otro tipo de trastorno del estado de ánimo es el trastorno bipolar, también llamado enfermedad maníaco-depresiva. No tan frecuente como otras formas de trastornos depresivos, el trastorno bipolar se caracteriza por cambios de estado de ánimo cíclicos: altos (manía) y bajos (depresión) graves. A veces, los interruptores del estado de ánimo son drásticos y rápidos, pero muy frecuentemente son graduales. Cuando se encuentra en el ciclo deprimido, un individuo puede tener cualquiera o todos los síntomas de un trastorno depresivo. Cuando se encuentra en el ciclo maníaco, el individuo puede estar hiperactivo, hablar excesivamente; y tener una gran cantidad de energía. La manía a menudo afecta al pensamiento, el juicio y el comportamiento social en formas que causan graves problemas y situaciones embarazosas. Por ejemplo, el individuo en una fase maníaca puede sentirse eufórico, lleno de grandes proyectos que podrían ir desde decisiones de negocio imprudentes a juergas románticas. La manía, no tratada, puede empeorar a un estado psicótico.

Los inhibidores peptídicos de la activación de Elk-1 y MSK-1 de la invención, las secuencias de ácido nucleico que codifican los mismos o los vectores de expresión que comprenden dichas secuencias de ácido nucleico se pueden formular en composiciones farmacéuticas. Estas composiciones pueden comprender, además de una de las sustancias anteriores, un excipiente, portador, tampón, estabilizador u otros materiales farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica. Tales materiales deben ser no tóxicos y no deben interferir en la eficacia del ingrediente activo. La naturaleza precisa del portador u otro material puede depender de la ruta de administración, p. ej., las rutas oral, intravenosa, cutánea o subcutánea, nasal, intramuscular, intraperitoneal o parches.

Las composiciones farmacéuticas para administración oral pueden estar en forma de comprimido, cápsula, polvo o líquido. Un comprimido puede incluir un portador sólido tal como gelatina o un coadyuvante. Las composiciones farmacéuticas líquidas generalmente incluyen un portador líquido tal como agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o aceite sintético. Se pueden incluir solución salina fisiológica, solución de dextrosa u otro sacárido o glicoles tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol. Para la inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, o la inyección en el sitio de la aflicción, el ingrediente activo estará en forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable que está libre de pirógenos y tiene un pH, isotonicidad y estabilidad adecuados. Los expertos relevantes en la técnica son capaces de preparar soluciones adecuadas utilizando, por ejemplo, vehículos isotónicos tales como inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de Ringer con lactato añadido. Se pueden incluir conservantes, estabilizantes, tampones, antioxidantes y/u otros aditivos, según sea necesario.

La prescripción del tratamiento, p. ej., las decisiones sobre la dosificación, etc., está dentro de la responsabilidad de los médicos generales y otros médicos, y típicamente tiene en cuenta el trastorno a tratar, el estado del paciente individual, el sitio de liberación, el método de administración y otros factores conocidos por los médicos.

En una aplicación terapéutica, los inhibidores peptídicos selectivos de la invención están incorporados en composiciones farmacéuticas destinadas a la administración por cualquier medio efectivo, incluyendo la administración parenteral, tópica, oral, pulmonar (p. ej. por inhalación) o local. Preferiblemente, las composiciones

farmacéuticas se administran parenteralmente, p. ej., por vía intravenosa, subcutánea, intradérmica, o intramuscular, o intranasal.

En una realización de la invención, la composición farmacéutica de la invención se administra por vía intranasal.

En otra realización de la invención, la composición farmacéutica de la invención se administra por vía intravenosa.

- 5 En una realización, los péptidos que tienen la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica pueden ser administrados, por ejemplo, sistémicamente, por vía nasal, etc., utilizando métodos conocidos por los expertos en la técnica. En otra realización, los péptidos más grandes que no tienen la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica pueden ser administrados al cerebro del mamífero a través de inyección intracerebroventricular (ICV) o a través de una cánula utilizando mecanismos bien conocidos por los expertos en la técnica.
- 10 En una realización, la invención proporciona composiciones para la administración parenteral que comprenden una solución de los inhibidores peptídicos de la invención, tal como se ha descrito anteriormente, disueltos o suspendidos en un portador aceptable, preferiblemente un portador acuoso. Se puede utilizar una variedad de portadores acuosos, incluyendo, por ejemplo, agua, agua tamponada, solución salina al 0,4%, glicina al 0,3%, ácido hialurónico y similares. Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización
- 15 convencionales, bien conocidas o, se pueden filtrar de forma estéril. Las soluciones acuosas resultantes se pueden envasar para su uso tal cual o liofilizadas, combinándose la preparación liofilizada con una solución estéril antes de su administración. Las composiciones pueden contener sustancias coadyuvantes farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas incluyendo el ajuste del pH y agentes tamponadores, agentes para el ajuste de la tonicidad, agentes humectantes y similares, tales como, por ejemplo,
- 20 acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, etc.

- Para las composiciones sólidas, se pueden utilizar portadores sólidos no tóxicos convencionales que incluyen, por ejemplo, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio, y similares. Para la administración oral, se forma una
- 25 composición no tóxica farmacéuticamente aceptable incorporando cualquiera de los excipientes empleados normalmente, tales como aquellos portadores enumerados anteriormente, y generalmente de 10 a 95% de ingrediente activo y más preferiblemente a una concentración de 25% a 75%.

- Para la administración en aerosol, los polipéptidos del NAP o ADNf se suministran preferiblemente finamente divididos junto con un tensioactivo y propelente. El tensioactivo debe, por supuesto, ser no tóxico, y preferiblemente soluble en el propelente. Son representativos de tales agentes los ésteres o ésteres parciales de ácidos grasos que
- 30 contienen de 6 a 22 átomos de carbono, tales como los ácidos caproico, octanoico, láurico, palmítico, esteárico, linoleico, linolénico, olestérico y oleico con un alcohol polihidroxilado alifático o su anhídrido cíclico. Se pueden emplear ésteres mixtos, tales como glicéridos mixtos o naturales. También se puede incluir un portador, según se desee, como, por ejemplo, lecitina para la administración intranasal. Un ejemplo incluye una solución en la que cada
- 35 mililitro incluye 7,5 mg de NaCl, 1,7 mg de monohidrato de ácido cítrico, 3 mg de fosfato disódico dihidratado y 0,2 mg de solución de cloruro de benzalconio (50%) (Gozes et al., J Mol Neurosci.19 (1-2): 167-70 (2002)).

- Otro objeto de la invención es un método para el tratamiento de trastornos de ansiedad y del estado de ánimo en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un inhibidor peptídico selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 como se ha descrito aquí anteriormente, o una
- 40 cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica como se ha descrito aquí anteriormente.

- En una realización, los inhibidores peptídicos de la activación de Elk-1 o MSK-1 de la invención se administran a un paciente en una cantidad suficiente para prevenir y/o tratar los trastornos de ansiedad y del estado de ánimo. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "dosis terapéuticamente eficaz". Las cantidades eficaces para
- 45 este uso dependerán, por ejemplo, del inhibidor peptídico concreto empleado, del tipo de enfermedad o trastorno que se vaya a prevenir, de la forma de administración, del peso y el estado general de salud del paciente, y del juicio del médico que prescribe.

- Por ejemplo, una cantidad de inhibidor peptídico que está dentro del intervalo de una dosis de 100 ng a 10 mg administrada por vía intranasal una vez al día (p. ej., por la tarde) sería una cantidad terapéuticamente eficaz. Alternativamente, las dosis pueden estar fuera de este intervalo, o en un programa diferente. Por ejemplo, las dosis
- 50 pueden variar de 0,0001 mg/kg a 10.000 mg/kg, y serán preferentemente de 0,001 mg/kg, 0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 50 mg/kg o 500 mg/kg por dosis. Las dosis se puede administrar cada hora, cada 4, 6 o 12 horas, con las comidas, todos los días, cada 2, 3, 4, 5, 6, ó 7 días, semanalmente, cada 2, 3, 4 semanas, mensualmente o cada 2, 3 ó 4 meses, o cualquier combinación de los mismos. La duración de la dosificación puede ser de una sola dosis (aguda), o en el transcurso de días, semanas, meses o años, dependiendo de la afección que se vaya a tratar.

- 55 En una realización de la invención, los inhibidores selectivos de Elk-1 y MSK1 se utilizan combinados con fármacos antidepresivos clásicos incluyendo los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI), tales como la fluoxetina (Prozac®), los inhibidores selectivos de la recaptación de norepinefrina (NERI), los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y norepinefrina combinados (SNRI), los inhibidores de la monoaminoxidasa (MAOI),

los inhibidores de la fosfodiesterasa-4 (PDE4) u otros antidepresivos atípicos, como Tianeptina, Miltazapina ...

En una realización de la invención, dicho uso en el tratamiento de trastornos de ansiedad y del estado de ánimo en un sujeto que lo necesite, comprende además la administración combinada de al menos un fármaco antidepresivo clásico, incluyendo, pero no limitado a, inhibidores de la recaptación de serotonina (SSRI), inhibidores selectivos de la recaptación de norepinefrina (NERI), inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina-norepinefrina combinados (SNRI), inhibidores de la monoaminooxidasa (MAOI), inhibidores de la fosfodiesterasa-4 (PDE4) u otros antidepresivos atípicos.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. En el TST, el péptido TAT-DEF-Elk-1 induce efectos de tipo antidepresivo similares a los de los antidepresivos clásicos fluoxetina y desipramina.

(A). El péptido se inyectó 90 minutos antes del ensayo; la desipramina y la fluoxetina 30 minutos de acuerdo con los protocolos convencionales. El péptido de control desordenado (B) y el inhibidor de MEK SL327 (C) no tienen ningún efecto en este paradigma. Los datos se analizaron con un ANOVA de una vía y post-hoc de Duncan (* indica $p < 0,05$).

Figura 2. En el FST, el péptido TAT-DEF-Elk-1 induce efectos de tipo antidepresivo similares a los del antidepresivo clásico desipramina.

El péptido se inyectó 90 minutos antes del ensayo; la desipramina 30 min acuerdo con los protocolos convencionales (A). El péptido de control desordenado (B) y el inhibidor de MEK SL327 (C) no tienen ningún efecto en este paradigma. El péptido TAT-DEF-Elk-1 no afecta a la locomoción horizontal (D). Los datos se analizaron con un ANOVA de una vía y post-hoc de Duncan (* indica $p < 0,05$).

Figura 3. Protocolo de estrés medio crónico impredecible y grupos experimentales.

Figura 4. En el paradigma UCMS, el péptido TAT-DEF-Elk-1 induce efectos de tipo antidepresivo. (A) Existe una pérdida progresiva de peso en los animales estresados (triángulos de color negro) en comparación con los animales no estresados (círculos de color blanco). Esta pérdida se invierte mediante la administración del péptido durante el UCMS (cuadrados de color gris). (B) Existe una degradación progresiva del estado de la capa en animales estresados (triángulos de color negro), en comparación con los animales no estresados (círculos de color blanco). Esta degradación se invierte parcialmente mediante la administración del péptido durante el UCMS (cuadrados de color gris). Los datos fueron analizados con medidas ANOVA repetidas y post-hoc de Duncan (* indica $p < 0,05$ en comparación con los no estresados; núm. indica $p < 0,05$ en comparación con los estresados).

Figura 5. En el paradigma de UCMS el péptido TAT-DEF-Elk-1 induce efectos de tipo antidepresivo. (A) Existe un aumento en la inmovilidad en el TST en animales estresados (barra de color negro) en comparación con los animales no estresados (barra de color blanco). Este se reduce por la administración del péptido durante el UCMS (barra de color gris). (B) Existe una pérdida de preferencia por la sacarosa (expresada como % de azúcar del consumo total del animal (azúcar + agua)) en los animales estresados (barra de color negro) en comparación con los animales no estresados (barra de color blanco). Esto se invierte mediante la administración del péptido durante el UCMS (barra de color gris). Los datos fueron analizados con ANOVA de una vía y post-hoc de Duncan (* indica $p < 0,05$ en comparación con los no estresados; núm. indica $p < 0,05$ en comparación con los estresados).

Figura 6: La asociación del péptido TAT-DEF-Elk1 con el antidepresivo de referencia desipramina reduce marcadamente y de una manera dependiente de la dosis el retraso de inicio de la acción en la prueba de hipofagia inducida por ambiente novedoso.

Los datos representan las medias $\pm$ ET de latencia para consumir un tratamiento agradable al paladar cuando este se presenta al animal en un ambiente estresante; * $p < 0,05$ en comparación con los tratados con solución salina.

Figura 7: El péptido TAT-DEF-Elk1 reduce la evitación social en la prueba de estrés de derrota social (SDS).

(A) Los datos representan las medias $\pm$ ET de tiempo invertido en la interacción (TSI) con la jaula, en ausencia (barras no sombreadas) o presencia (barras sombreadas) de la diana. Cuando la diana está presente, los ratones de control se involucran en un comportamiento social activo, observado como un aumento de TSI (panel a), mientras que los ratones derrotados tratados con vehículo (panel b, barras de color blanco) muestran menor TSI, indicando evitación social. El tratamiento con TAT-DEF-Elk1 (barras de color gris) invierte totalmente este comportamiento. * $p < 0,05$ vs TSI en ausencia de la diana.

(B). Los mismos resultados se representaron como valores porcentuales. * $p < 0,01$ vs no derrotado, núm. $p < 0,05$ vs derrotados tratados con vehículo.

Figura 8: El péptido TAT-DEF-Elk-1 reduce la fosforilación de Elk1 inducida por suspensión de la cola en la corteza prefrontal medial (mPFCx).

* $p < 0,05$ en comparación con los ratones no estresados que recibieron el mismo tratamiento
núm. $p < 0,05$ en comparación con los ratones no estresados o estresados tratados con vehículo.

Figura 9: El péptido TAT-DEF-Elk1 reduce considerablemente el aumento inducido por el estrés de la corticosterona en plasma.

- 5 Los datos representan las medias $\pm$ ET de corticosterona en plasma en condiciones banales (sin estrés, barras de color gris claro) e inmediatamente después de un estrés por constricción durante 30 min (barras de color gris oscuro); el vehículo o el péptido TAT-DEF-Elk1 se administraron 1h antes del inicio del estrés; * $p < 0,05$ en comparación con los no estresados; núm. $p < 0,05$ en comparación con los tratados con vehículo.

Ejemplos

- 10 Se sometió a ensayo el péptido TAT-DEF-Elk-1 (GRKKRRQRRRPPSPAKLSFQFPSSGSAQVHI) en dos pruebas de indefensión aprendida diferentes, la prueba de suspensión por la cola en ratón (TST) y la prueba de natación forzada en ratón (FST).

- 15 En estos ensayos los animales experimentales están expuestos a situaciones aversivas ineludibles (colgando por la cola, permaneciendo en agua) y en respuesta muestran periodos alternos de agitación e inmovilidad que reflejan "intentos de fuga" y "desesperanza aprendida", respectivamente. El FST y el TST son ampliamente utilizados para predecir la actividad antidepresiva; el tratamiento agudo con antidepresivos aumenta intentos de fuga activos, reduciendo así la inmovilidad (p. ej., Svenningsson et al., PNAS, 2002; Li et al., Neuropharmacol, 2001).

- 20 Los detalles de los protocolos experimentales utilizados son los siguientes: a los ratones se les inyectó ip vehículo, diferentes dosis del péptido TAT-DEF-Elk-1, de un péptido desordenado (que sirve como control), del inhibidor de MEK SL327, o con los antidepresivos de referencia fluoxetina (20 mg/kg) o desipramina (20 mg/kg), en momentos puntuales apropiados antes de la prueba de ensayo.

- 25 En el TST, cada ratón se puso a prueba en un cubículo individual, mientras era suspendido por la cola de un gancho con cinta adhesiva envuelta alrededor de su cola (1,5-2 cm desde la punta) a 80 cm por encima del suelo. La prueba se llevó a cabo durante 5 min, durante los cuales se midió la duración de la inmovilidad de forma automática (BIOSEB, Francia). Para el FST, los ratones se colocaron en cilindros de plástico transparente (diámetro 10 cm; altura 25 cm) llenos de agua a 6 cm de altura (22-25°C) durante 6 min. Un observador ciego anotó la duración de la inmovilidad manualmente durante los últimos 4 minutos de la prueba de 6 min.

- 30 Como se muestra en la Figura 1, el péptido TAT-DEF-Elk-1 redujo la inmovilidad en el TST de un modo similar al de los antidepresivos clásicos; el máximo efecto del péptido TAT-DEF-Elk-1 fue de una magnitud similar a la de la fluoxetina y la desipramina. La curva en forma de U invertida de los efectos del péptido TAT-DEF-Elk-1 podría estar relacionada con los efectos no específicos observados con dosis altas del péptido.

Además, el péptido TAT-DEF-Elk1 también indujo efectos de tipo antidepresivo en el FST a las mismas dosis que fueron efectivas en el TST (Figura 2A). Por otra parte, el péptido de control desordenado y SL327 no tuvieron ningún efecto en el FST (Figura 2B, 2C).

- 35 Los aumentos en la inmovilidad observados en el TST y el FST reflejan la acción antidepresiva del péptido TAT-DEF-Elk1 ya que a estas dosis no afectó a la actividad locomotora (Figura 2D).

- 40 Los autores de la presente invención también han evaluado los efectos del péptido TAT-DEF-Elk1 en el paradigma de estrés medio crónico impredecible (UCMS). El UCMS se utiliza como un modelo pertinente de depresión con validez etiológica. En los protocolos de UCMS, los animales son sometidos durante un largo periodo a diferentes factores de estrés no anticipados. La exposición crónica al estrés da como resultado un síndrome en ratones que reproduce los síntomas de la depresión, incluyendo el aumento de resignación, el comportamiento de tipo ansiedad, la disminución del consumo de alimentos apetecibles, y cambios fisiológicos. La administración crónica de compuestos con actividad antidepresiva invierte estos cambios.

- 45 El protocolo que han utilizado los autores de la presente invención consiste en tres semanas de UCMS, durante las cuales los ratones fueron sometidos a distintos factores de estrés de acuerdo con un programa "aleatorio". El peso corporal y el estado de la capa se evaluaron semanalmente, como marcadores del progreso del síndrome provocado por UCMS. Al final del periodo de 3 semanas el estado emocional de los ratones se sometió a ensayo en pruebas de comportamiento de emocionalidad y de comportamientos similares a la depresión (Figura 3A).

Los grupos experimentales de ratones fueron los siguientes:

- 50 (i) ratones no estresados: éstos fueron alojados en grupo y fueron manipulados y mantenidos en condiciones normales de laboratorio (Grupo 1; Figura 3B),

(ii) ratones estresados: éstos se mantuvieron bajo condiciones normales de laboratorio, pero se aislaron en pequeñas jaulas individuales. Durante el protocolo de tres semanas fueron expuestos a tres factores estresantes leves por día. Los ratones estresados fueron tratados con vehículo (Grupo 2; Figura 3B), con el péptido (1 mg/kg;

una vez al día), o con el antidepresivo de referencia fluoxetina (20 mg/kg; una vez al día) (Grupo 3; Figura 3B). El tratamiento con vehículo o compuestos se inició al principio del UCMS y duró todo el período de tres semanas.

Como se muestra en la Figura 4 el péptido TAT-DEF-Elk1 tiene un perfil de tipo antidepresivo en el paradigma UCMS.

- 5 A saber, el tratamiento con el péptido TAT-DEF-Elk1 invirtió la pérdida progresiva de peso inducida por UCMS (Figura 4A). Una reversión completa de la pérdida de peso corporal fue visible al final de la tercera semana post-estrés, lo que indica que era necesaria una administración prolongada del péptido TAT-DEF-Elk1 para inducir este efecto, como en el caso de los antidepresivos clásicos. El péptido TAT-DEF-Elk1 también disminuyó la degradación del estado de la capa que es inducida por UCMS (Figura 4B). La reversión parcial de la degradación de la capa
10 también se observó solo después de dos semanas de administración del péptido TAT-DEF-Elk1, como en el caso de los antidepresivos clásicos.

Al final del paradigma UCMS, los ratones se sometieron a ensayo para determinar las respuestas de tipo depresivo, tales como la pasividad y la resignación medidas como el aumento de la inmovilidad en el ensayo de suspensión por la cola y la anhedonia medida como la preferencia por la sacarosa.

- 15 El péptido TAT-DEF-Elk1 redujo la inmovilidad inducida por UPMS en el TST (Figura 5A) y restauró completamente la preferencia por la sacarosa mitigada por UCMS (Figura 5B), de manera similar al antidepresivo de referencia fluoxetina.

La acción antidepresiva del péptido TAT-DEF-Elk1 se confirmó usando dos modelos adicionales: (i) el ensayo de hipofagia inducida por ambiente novedoso y (ii) el ensayo de derrota social.

- 20 En el ensayo de hipofagia por ambiente novedoso, se administraron el péptido TAT-DEF-Elk1 (0,5, 1 y 2 mg/kg), desipramina (5, 10 y 15 mg/kg), una combinación de los dos o vehículo 6 ó 21 días antes del ensayo como se indica en la Figura 6. Los resultados muestran que la asociación del péptido TAT-DEF-Elk1 con el antidepresivo de referencia desipramina reduce marcadamente y de una manera dependiente de la dosis el retraso del inicio de la acción en el ensayo de hipofagia por ambiente novedoso. Después de la administración crónica (21 días), el efecto
25 del péptido TAT-DEF-Elk1 es similar al efecto de la desipramina. Sin embargo, se observa un retraso del inicio de la acción en el ensayo solamente después de un tratamiento subcrónico (6 días) con la administración de una combinación del péptido TAT-DEF-Elk1 y desipramina.

- En el ensayo de estrés de derrota social (SDS), los ratones fueron expuestos repetidamente (2 semanas) a ratones agresivos; los controles se manejaron con cuidado. Posteriormente, se retiraron los agresores. Los ratones se
30 trataron con vehículo o TAT-DEF-Elk1 (1 mg/kg) durante 15 ó 21 días, y luego se sometieron a ensayo de evitación social inducida por SDS. La caja de ensayo contenía una jaula de plástico perforada que estaba vacía para la primera sesión del ensayo y que contenía un ratón neutro (diana) para la segunda sesión del ensayo.

- Los resultados muestran que la desipramina no tenía ningún efecto sobre la evitación social inducida por SDS después de 15 ó 21 días de tratamiento (datos no mostrados). La Figura 7 muestra que el péptido TAT-DEF-Elk1 es
35 activo solamente después de 15 días de administración lo que es compatible con un retraso reducido del inicio de la acción. Para la comparación, se ha descrito en la literatura que la imipramina tiene una acción antidepresiva en el ensayo de SDS solamente después de 39 días de administración.

- Los resultados presentados en la Figura 8 y la Figura 9 proporcionan una evidencia bioquímica in vivo sobre la eficacia y la especificidad de la acción del péptido TAT-DEF-Elk1 en la orientación de sustratos moleculares
40 relevantes para los trastornos del estado de ánimo.

- En el primer experimento, el péptido TAT-DEF-Elk-1 (2 mg/kg) o el vehículo se administraron 1h 30 antes de una prueba de suspensión por la cola de 10 min (TST). Los ratones fueron perfundidos 20 minutos después de comenzar el ensayo TST y se evaluó la fosforilación de ERK y Elk1 por medio de inmunquímica. Los resultados mostrados en la Figura 8 demuestran que el péptido TAT-DEF-Elk1 reduce selectivamente la fosforilación de Elk1 inducida por la
45 suspensión por la cola en la corteza prefrontal medial (mPFCx), ya que no inhibe la fosforilación de ERK inducida por la suspensión por la cola.

- En el segundo experimento a ratones C57BL/6J (10 semanas de edad) se les inyectaron el péptido TAT-DEF-Elk1 o vehículo; 1h 30 después de la inyección los ratones fueron sometidos a un estrés por contención de 30 minutos es decir, los ratones fueron confinados individualmente en un tubo Falcon de 50 ml en el que se hizo un agujero en la
50 parte superior para que los ratones respiraran. Los ratones fueron decapitados directamente después del confinamiento, se recogió sangre en tubos eppendorf de 2 ml que contenían EDTA a 4°C. Las muestras se centrifugaron durante 15 min a 760 g, se recogió plasma y se evaluó la corticosterona utilizando el kit Corticosterone Double Antibody 125-IRIA (MP Biomedical).

- Los resultados mostrados en la Figura 9 demuestran que el péptido TAT-DEF-Elk1 reduce notablemente las elevaciones inducidas por estrés del nivel de corticosterona en plasma, pero no afecta al nivel basal de corticosterona en plasma.
55

Referencias

Svenningsson P. et al. (2002) Involvement of striatal and extrastriatal DARPP-32 in biochemical and behavioral effects of fluoxetine (Prozac). *Proc Natl Acad Sci USA* 99:3182-87.

- 5 Li X et al. (2001) Antidepressant-like actions of an AMPA receptor potentiator (LY392098). *Neuropharmacology* 40:1028-33.

Manji HK et al. (2003) Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry* 53:707-42. Review

10

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Universidad Pierre et Marie Curie CNRS Caboche, J.

<120> TRATAMIENTO DE LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD Y ESTADO DE ÁNIMO

<130> BCT090303

5 <160> 30

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

10 <213> artificial

<220>

<223> dominio de interacción Elk-1

<400> 1

Ser	Pro	Ala	Lys	Leu	Ser	Phe	Gln	Phe	Pro	Ser	Ser	Gly	Ser	Ala	Gln
1				5					10					15	

Val His Ile

15 <210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial

<220>

20 <223> dominio de interacción Elk-1

<400> 2

Lys	Gly	Arg	Lys	Pro	Arg	Asp	Leu	Glu	Leu	Pro	Leu	Ser	Pro	Ser	Leu
1				5					10					15	

Leu

<210> 3

<211> 18

25 <212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> dominio de interacción MSK-1

<400> 3

30 Lys Ala Pro Leu Ala Lys Arg Arg Lys Met Lys Lys Thr Ser Thr Ser

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos de ansiedad y del estado de ánimo,

en donde dicho inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 es un péptido que comprende:

- 5 - al menos una secuencia de penetración en la célula, y
- al menos una secuencia del dominio de interacción seleccionada del grupo del SEQ ID NO: 1
(SPAKLSFQFPSSGSAQVHI) y el SEQ ID NO: 2 (KGRKPRDLELPLSPSLL)

y dicho inhibidor selectivo de la activación de MSK-1 es un péptido que comprende:

- al menos una secuencia de penetración en la célula, y
- 10 - una secuencia del dominio de interacción seleccionada del grupo del SEQ ID NO: 3
(KAPLAKRRKMKKTSTSTE).

2. El inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha secuencia de penetración en la célula se selecciona del grupo que comprende la secuencia TAT de VIH (SEQ ID NO: 4); Penetratina (SEQ ID NO: 5); una secuencia de aminoácidos de 7 a 11 argininas (SEQ ID NO: 6 a 10); una
15 secuencia X7/11R de 7 a 25 aminoácidos que comprende de 7 a 11 argininas colocadas al azar en la secuencia; o una secuencia derivada de DPV (SEQ ID NO: 15 a 19).

3. Un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y de ansiedad, en donde dicho inhibidor de la activación de Elk-1 consiste esencialmente en una
20 secuencia de aminoácidos de acuerdo con la secuencia del SEQ ID NO: 28 o el SEQ ID NO: 29 o variantes conservativas de la función de las mismas.

4. Un inhibidor selectivo de la activación de MSK-1 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos de ansiedad y del estado de ánimo, en donde dicho inhibidor de la activación de MSK-1 consiste esencialmente en una
 secuencia de aminoácidos de acuerdo con la secuencia del SEQ ID NO: 30 o variantes conservativas de la función de las mismas.

25 5. Una composición farmacéutica para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos de ansiedad y del estado de ánimo, en donde dicha composición farmacéutica comprende al menos un inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicha composición farmacéutica comprende:

- 30 a) al menos un inhibidor peptídico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4;
- b) un ácido nucleico que codifica dicho péptido; o
- c) un vector de expresión que comprende dicho ácido nucleico.

35 7. El inhibidor selectivo de la activación de Elk-1 o MSK-1 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 ó 6, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la depresión.

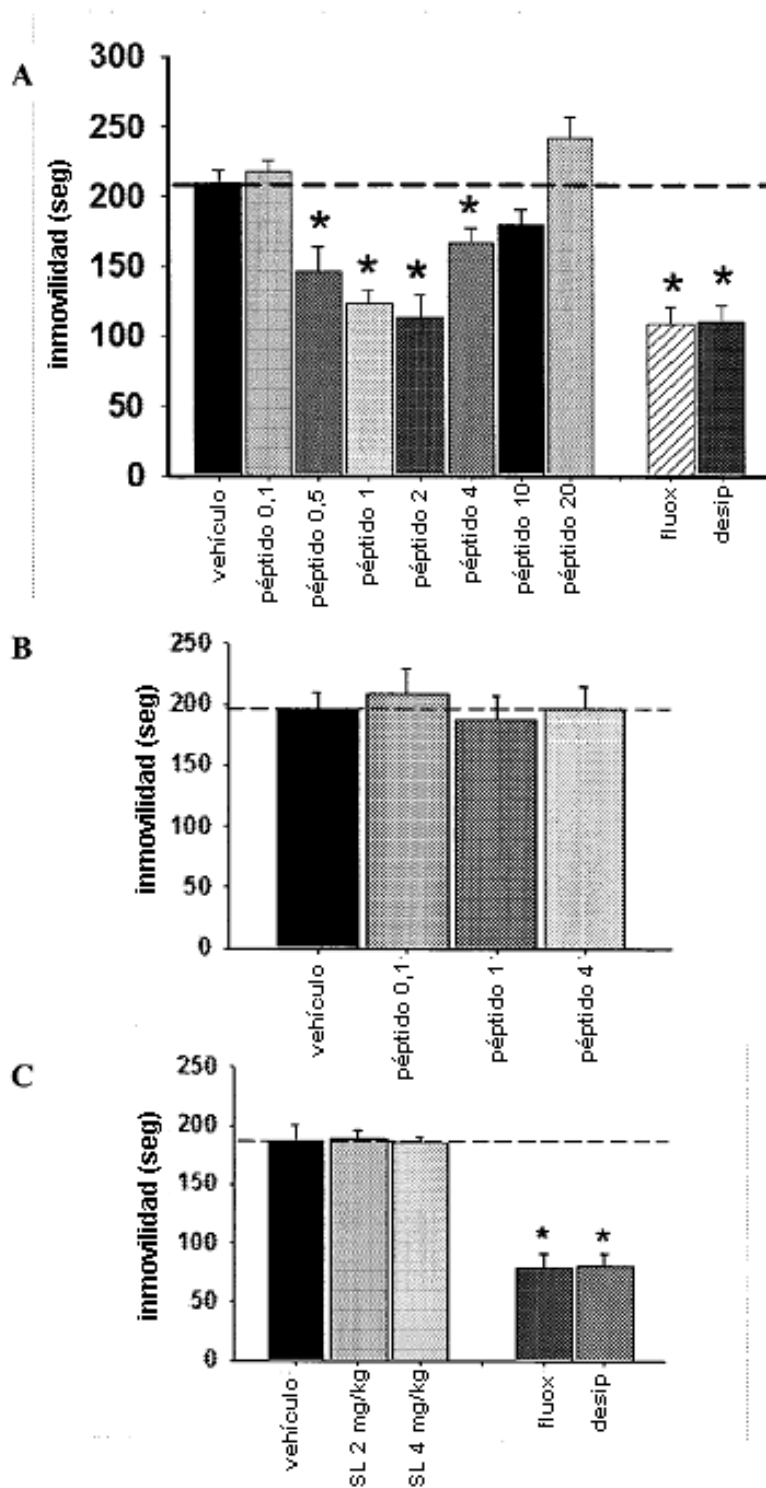


Figura 1

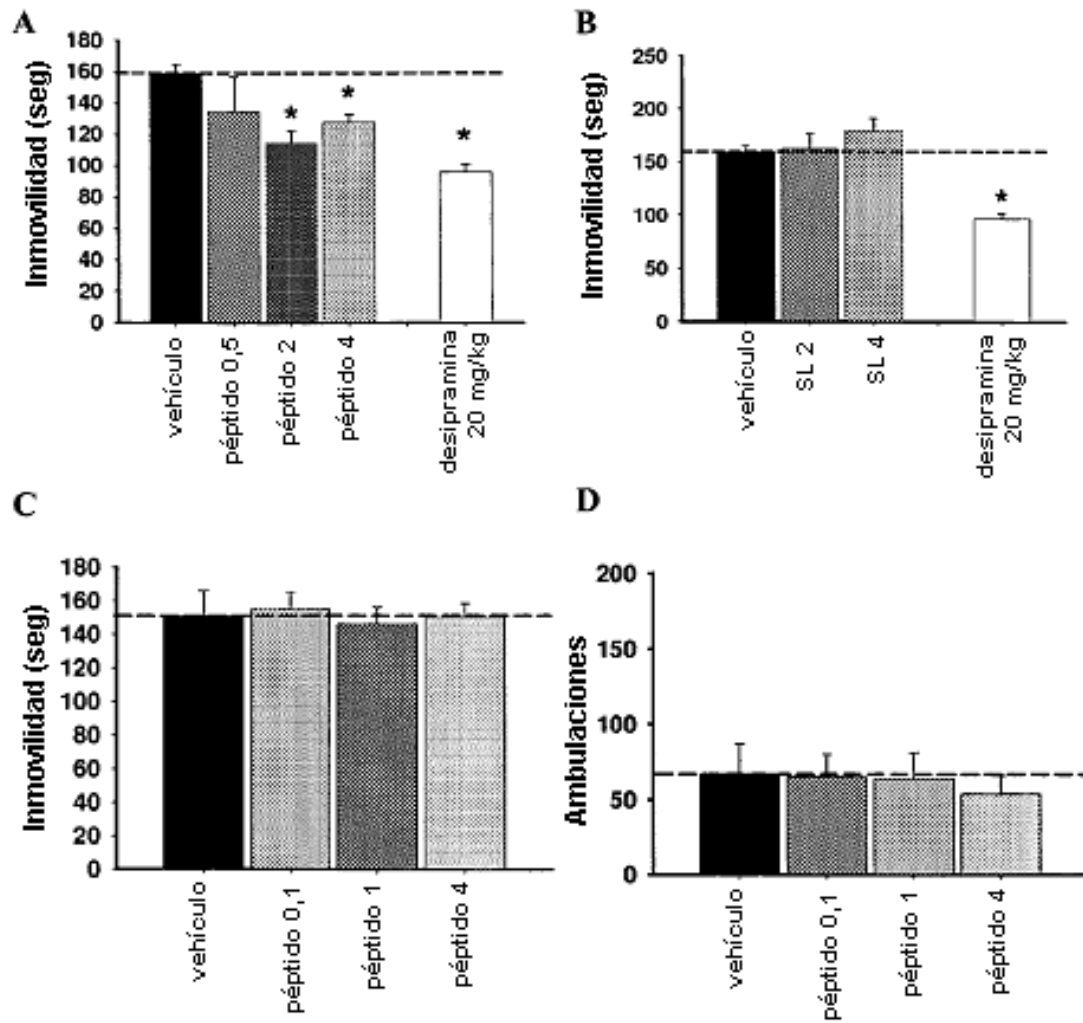


Figura 2

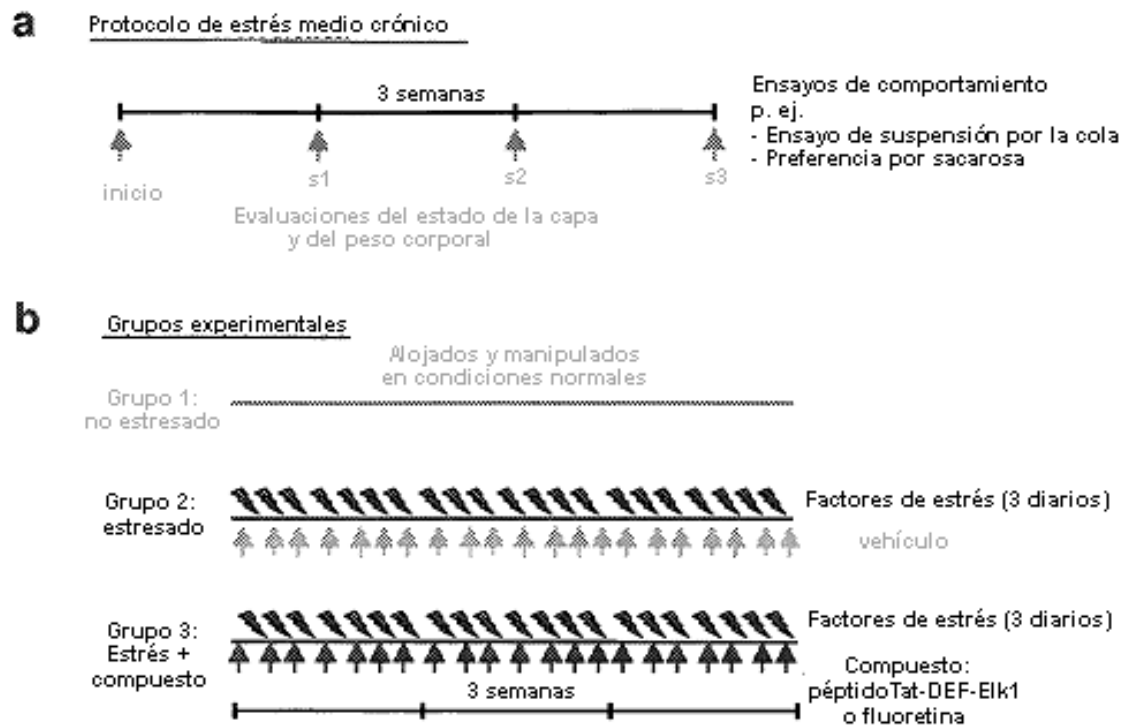


Figura 3

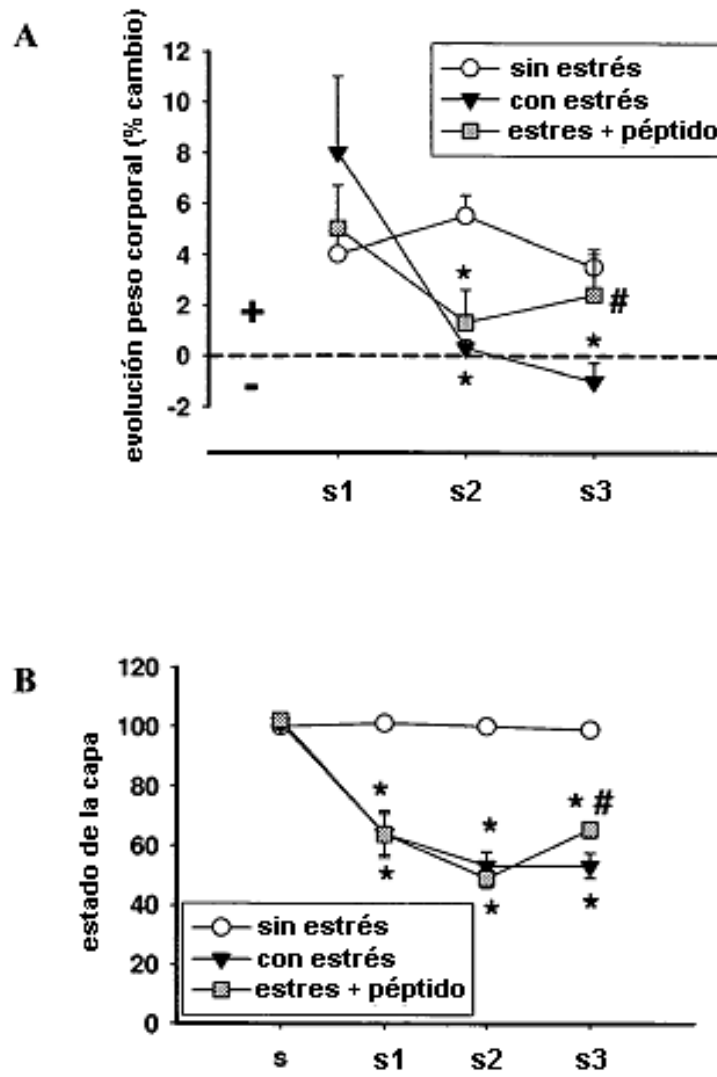


Figura 4

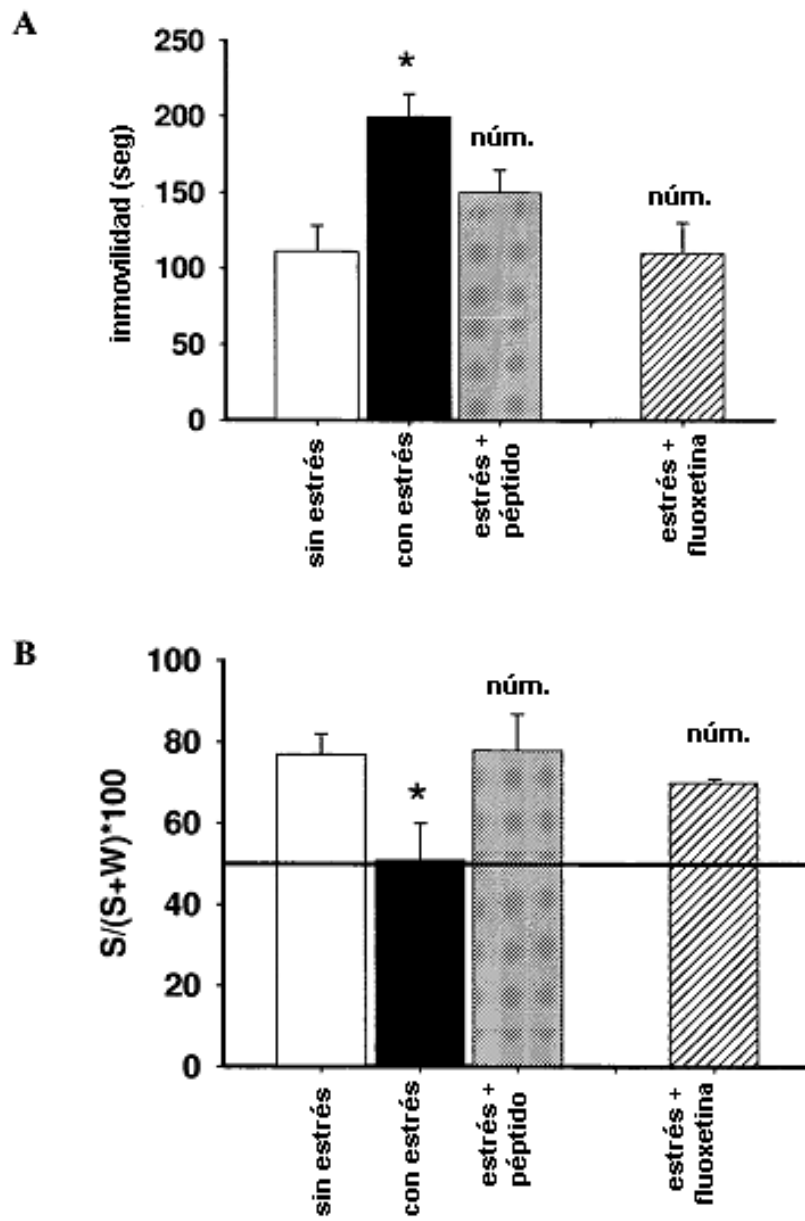


Figura 5

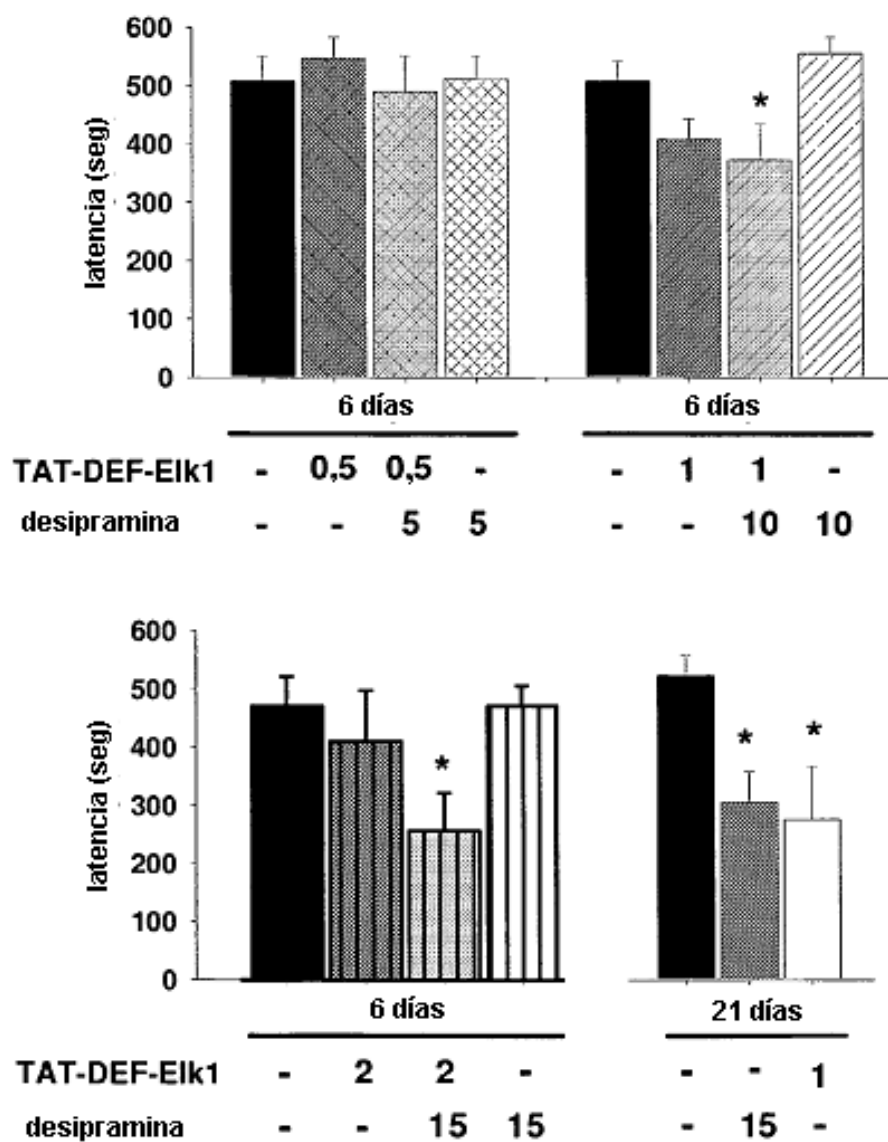


Figura 6

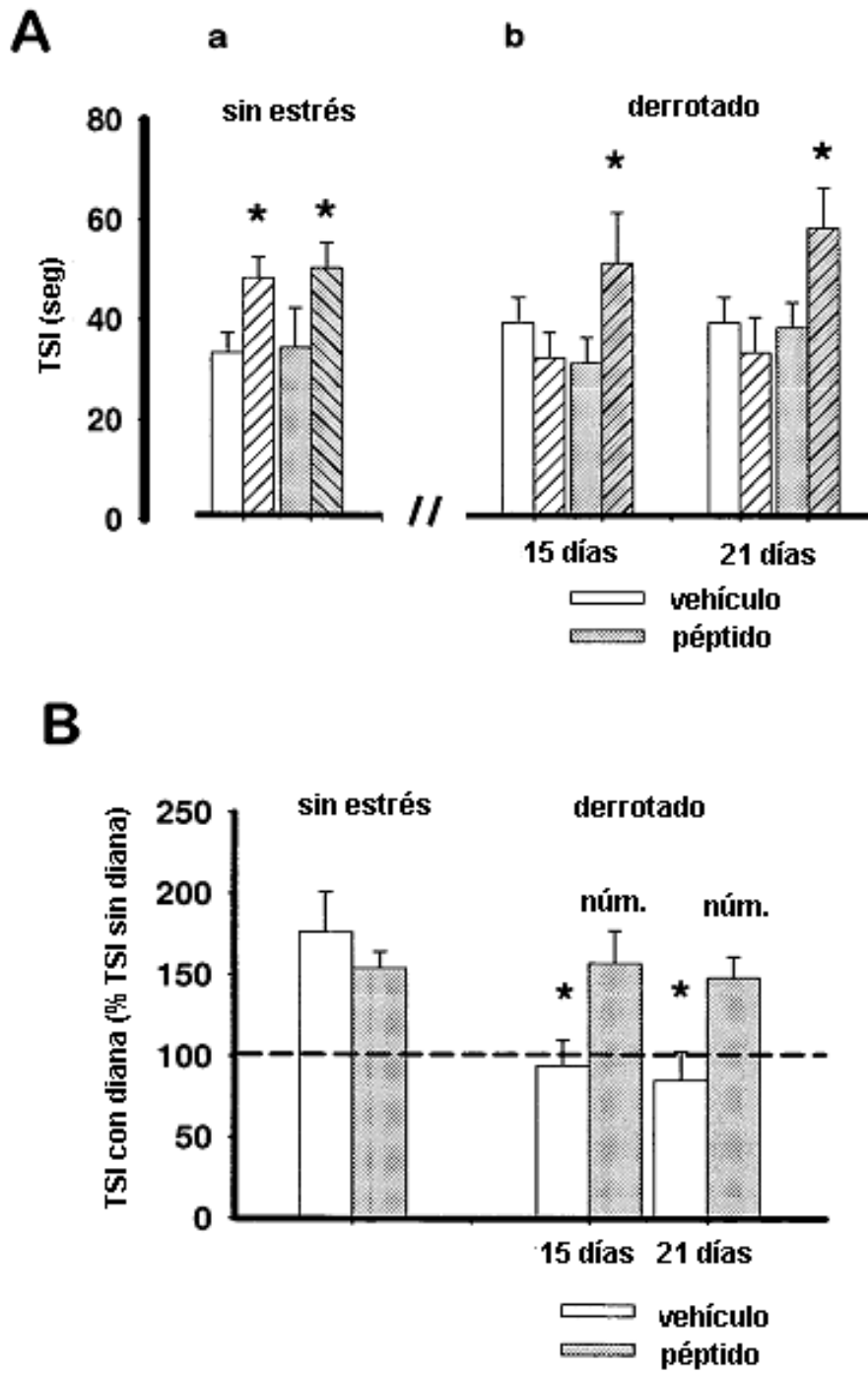


Figura 7

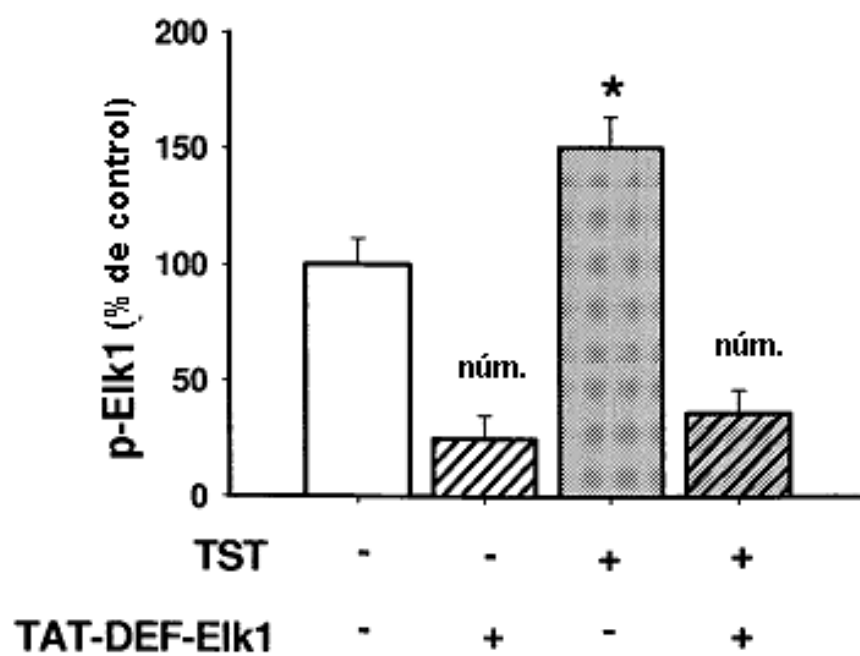
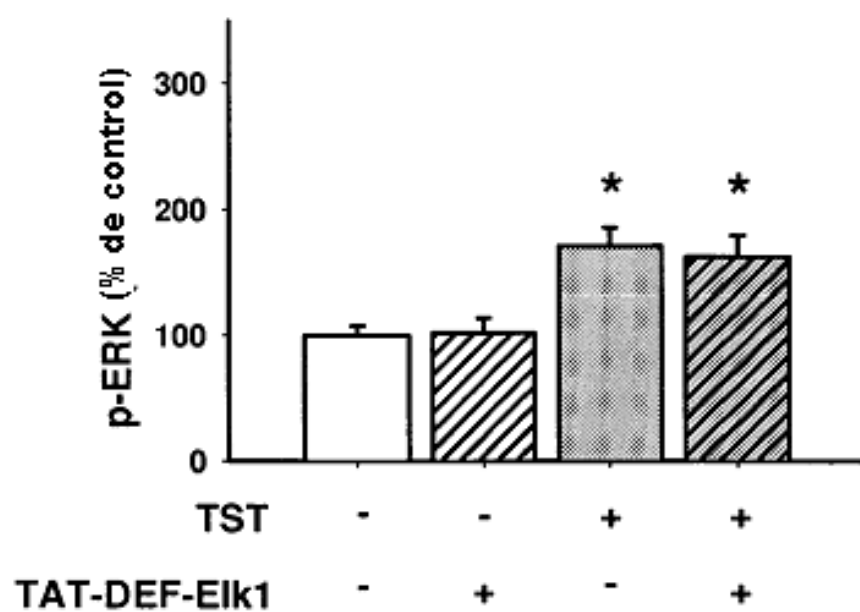


Figura 8

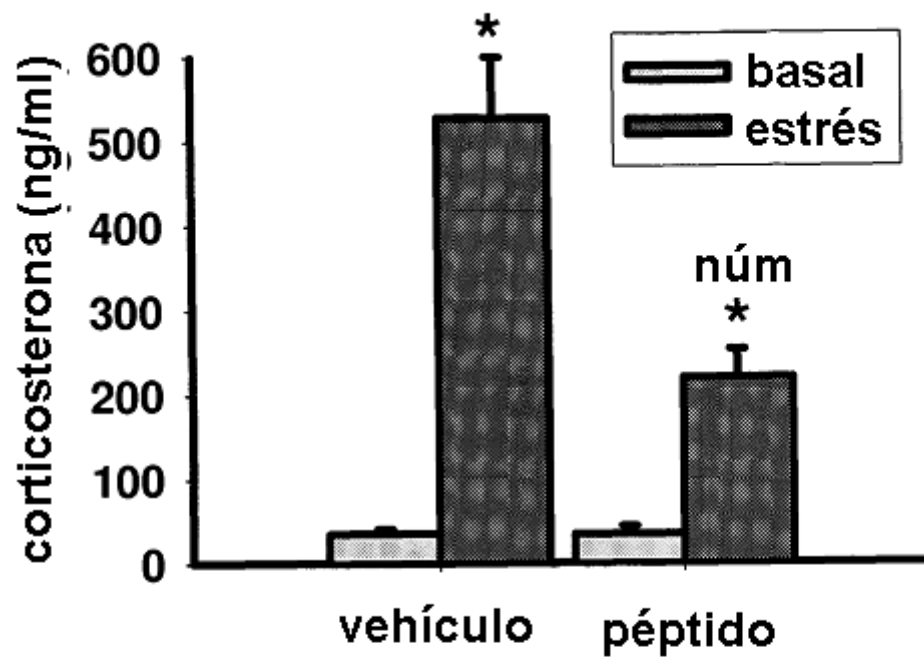


Figura 9