

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 616**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/24** (2006.01)

**C07K 14/545** (2006.01)

**A61K 38/20** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2012 PCT/DK2012/000022**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.09.2012 WO12122985**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2012 E 12710122 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.08.2016 EP 2686431**

54 Título: **Antagonistas del receptor de la interleucina-1**

30 Prioridad:

**14.03.2011 DK 201170120**

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

**10.02.2017**

73 Titular/es:

**PHLOGO APS (100.0%)  
Sømarksvej 11  
2900 Hellerup, DK**

72 Inventor/es:

**BEREZIN, VLADIMIR y  
BOCK, ELISABETH**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 600 616 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

Antagonistas del receptor de la interleucina-1

5 **Campo de la invención**

La presente divulgación se refiere a nuevos compuestos que comprenden péptidos cortos derivados de la proteína antagonista del receptor de IL-1 (IL1RA), capaces de unirse a la superficie celular del receptor 1 de la IL-1 para antagonizar los efectos inflamatorios de IL-1 a través del cuerpo humano. También se desvela el uso de dichos péptidos como agentes antiinflamatorios para el tratamiento de afecciones patológicas en las que IL-1 desempeña un papel destacado, tales como las enfermedades inflamatorias del cuerpo y del sistema nervioso central.

**Antecedentes**

15 La interleucina 1 (IL-1) es un nombre general para dos proteínas distintas, la IL-1 alfa y la IL-1 beta, que son las principales citocinas proinflamatorias. La IL-1 ejerce sus efectos mediante la unión a receptores transmembrana específicos (IL-1RI) en múltiples tipos de células. Los efectos de IL-1 son contrarrestados por inhibidores naturales tales como receptores de IL-1 solubles y la proteína antagonista de IL-1R (IL1RA o IL1Ra). IL1RA inhibe el efecto de la IL-1 mediante el bloqueo de su interacción con los receptores de la superficie celular.

20 Las metodologías terapéuticas para dirigirse a la IL-1 a efectos antiinflamatorios se han abordado en la técnica. Estas incluyen la administración de la proteína antagonista de IL-1R recombinante, proteínas de fusión de trampas de IL-1, anticuerpos anti-IL-1, anti-IL-1RI e IL-1RI y IL solubles en modelos experimentales de la artritis (revisado en Gabay C. *et al.*, 2010).

25 Los péptidos con actividad antagonista de IL-1R se desvelan, por ejemplo, en el documento US20060094663A1. Estas secuencias se derivan de IL-1RACp (proteína auxiliar IL-1RI).

30 La proteína antagonista de IL-1R recombinante para su uso como un fármaco antiinflamatorio se ha comercializado: Anakinra, comercializado con el nombre comercial "Kineret" (véase el documento US5075222). Se ha aprobado para el tratamiento de la artritis reumatoide. Los inconvenientes de Anakinra son que (1) se administra como un concentrado de inyección con 100 mg en cada dosis; (2) se prepara a partir de *E. coli* modificada genéticamente usando tecnología del ADN recombinante; y (3) tiene un alto peso molecular (correspondiente a IL-1RA de longitud completa).

35 Así pues, la identificación de péptidos más cortos y potentes derivados de IL1RA pueden abordar estas desventajas, en tanto en cuanto: (1) se puede usar una menor concentración de los presentes péptidos; (2) los péptidos más pequeños son estables en solución y se pueden sintetizar químicamente más fácilmente con un menor coste asociado; y (3) el peso molecular inferior de los péptidos miméticos pequeños les permiten atravesar más fácilmente la barrera hematoencefálica, lo que se traduce en que se necesita una menor cantidad de péptido para alcanzar concentraciones de trabajo en el cerebro - esto los hace particularmente útiles también para el tratamiento de enfermedades neuroinflamatorias. La dirección específica también tiene el potencial de menores efectos secundarios y una mejor eficacia.

45 La familia de patentes WO05086695A2 desvela fragmentos de péptidos específicos de la proteína antagonista de IL-1R. Estos fragmentos son capaces de inhibir la destrucción del tejido en los trastornos inflamatorios, y se pueden usar para tratar trastornos inflamatorios crónicos y la artritis reumatoide (documento US2007027082; solicitud de patente de la patente expedida US7674464). No se aborda ningún efecto sobre los trastornos neurodegenerativos.

50 De acuerdo con el documento US2007027082, los fragmentos de péptidos desvelados comprenden preferentemente la subsecuencia LVAGY ("SEQ ID NO: 42"); estando presente en "SEQ ID NO: 13, 18, 21, 23, 24 y 43" del documento US2007027082. Se observó la inversión de los efectos inducidos por la IL-1 para "SEQ ID NO: 13, 15, 23 y 24" *in vitro* (Ejemplo 3) y "SEQ ID NO: 18 y 43" *in vivo* (Ejemplo 10).

55 Las "SEQ ID NO: 13, 18 y 19" del documento US2007027082 comprenden además la subsecuencia SGRKSSKMQA de ILR1A (presente SEQ ID NO: 1). El péptido más corto que comprende la subsecuencia SGRKSSKMQA de ILR1A que tiene un efecto de acuerdo con el documento US2007027082 es de 35 aminoácidos de longitud ("SEQ ID NO: 13"), siendo de 42 aminoácidos de longitud cuando se añade una señal de localización nuclear para la optimización ("SEQ ID NO: 18"). Cuando se examinan tan poco como 15 aminoácidos - excluyendo la subsecuencia LVAGY ("SEQ ID NO: 19"), no se observa ningún efecto sobre la inhibición de la producción de colagenasa estimulada por IL-1 *in vitro* (Ejemplo 3). Por lo tanto, en el documento US2007027082 se concluye que todos los péptidos activos en la inhibición de MMP-1 (una colagenasa) por IL-1beta contienen los restos LVAGY de IL1RA; siendo común a las 4 isoformas de IL1RA (documento US2007027082 [0115]).

65 La presente divulgación se refiere a fragmentos de péptidos adicionales de IL-1RA; siendo, en una realización, tan cortos como de 10 aminoácidos y que, en una realización, comprenden o consisten en SGRKSSKMQA (SEQ ID NO:

1). Dichos fragmentos se muestran en el presente documento para unirse directamente a IL-1RI e interferir con la unión de IL-1R a IL-1beta; lo que está en contraste con el fragmento de péptido largo de 35 aminoácidos ("SEQ ID NO: 13") del documento US2007027082 que no se une a IL-1R1.

5 Los péptidos cortos de acuerdo con la presente divulgación pueden comprender o consistir en SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o variantes, fragmentos o fragmentos variantes de los mismos. Tienen las ventajas frente tanto a IL1RA de longitud completa (anakinra) como a los péptidos largos de 35 y 42 aminoácidos del documento US2007027082 (comprendiendo ambos la subsecuencia SGRKSSKMQA) de que son muy estables, tienen una alta solubilidad y también tienen un bajo coste de síntesis. Estos efectos se producen con una capacidad conservada de los péptidos para unirse a IL1R1 y antagonizar el efecto de IL-1.

10 Otros péptidos cortos adicionales de la presente divulgación derivados de IL1RA comprenden o consisten en RIWDVNQKT (SEQ ID NO: 29), TAMEADQPVS (SEQ ID NO: 35) o GPNAKLEEKA (SEQ ID NO: 36), o variantes, fragmentos o fragmentos variantes de los mismos; que tienen las mismas ventajas indicadas para SEQ ID NO: 1 en el presente documento.

15 Además, los péptidos de una cierta longitud corta; tales como el péptido de 10 aminoácidos de SEQ ID NO: 1, tienen una mayor capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) para provocar un efecto sobre las células del sistema nervioso central (SNC); permitiendo así el uso de dichos péptidos cortos en los trastornos neuroinflamatorios asociados con la IL-1. No se ha abordado en la técnica previamente ningún efecto sobre las neuronas de IL1RA ni de fragmentos de péptido del mismo, ni que haya atravesado la BHE. En el presente documento, se muestra un efecto positivo en la excrecencia de las neuritas y la supervivencia de las células neuronales.

## 25 Sumario

La presente invención se refiere a una forma truncada de IL1RA que tiene mejores propiedades frente a la proteína IL1RA de longitud completa y anakinra.

30 El péptido se muestra en el presente documento por los presentes inventores por su unión a IL-1R1 y su interferencia con la unión de IL-1R1 a la citocina IL-1beta, teniendo, por lo tanto, un efecto inhibitorio sobre la señalización aguas abajo de la IL-1, incluyendo la inhibición de la activación de NF-κB y la reducción del aumento de TNF-alfa. Además, se observa un efecto positivo sobre la excrecencia de las neuritas y la supervivencia celular en las neuronas, mejorándose los signos de la artritis reumatoide *in vivo*.

35 Es un aspecto de la presente invención proporcionar un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1 (SGRKSSKMQA); o una variante de SEQ ID NO:1 que tenga una identidad de secuencia de al menos el 90 % con SEQ ID NO:1, comprendiendo dicha variante una sustitución de aminoácidos conservativa, en el que dicho péptido es capaz de unirse al receptor de IL-1 de tipo 1 (IL1RI) y capaz de interferir con la unión de IL-1 a IL1RI.

40 También es un aspecto de la presente invención proporcionar un compuesto que comprenda al menos un péptido de acuerdo con la presente invención. Dicho compuesto se puede formular como un monómero que consista en una sola copia del péptido, o se puede formular como un compuesto multimérico que comprenda dos o más péptidos de acuerdo con la invención. Dichos dos o más péptidos pueden ser idénticos entre sí o no. En una realización particular, dicho multímero puede ser un dímero o un dendrímero tetramérico.

45 También se proporciona en el presente documento una composición, tal como una composición o formulación farmacéutica, que comprende un péptido o un compuesto de acuerdo con la invención.

50 En un aspecto interesante, se proporcionan los péptidos, los compuestos y las composiciones de acuerdo con la invención para su uso como un medicamento.

55 Dicho uso puede comprender el tratamiento de trastornos inflamatorios, especialmente aquellos en los que la IL-1 desempeña un papel destacado. Estos incluyen artritis reumatoide, diabetes mellitus tal como diabetes mellitus de tipo I, trastorno neurodegenerativo en el que dicho trastorno neurodegenerativo tiene un componente neuroinflamatorio, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington y esclerosis múltiple.

## 60 Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un modelo de la estructura terciaria del complejo entre IL1Ra (presentación de espacio relleno) e IL1RI (estructuras secundarias principales). La ubicación de la secuencia peptídica de llantafin (*aka*. llantide) (SEQ ID NO: 1) se muestra en negro.

65 La Figura 2 muestra la unión de IL1β (A), IL1Ra (B) y el péptido llantafin (SEQ ID NO: 1) a IL1RI inmovilizado en un chip sensor empleando el análisis de resonancia de plasmón de superficie (SPR). UR - unidades de resonancia.

La [Figura 3](#) muestra la afinidad y las constantes de velocidad para la interacción entre llantafin (SEQ ID NO: 1), IL1 $\beta$  e IL1Ra, e IL1RI.

La [Figura 4](#) muestra la competición entre IL1RI soluble (SILR1) y el péptido llantafin (SEQ ID NO: 1) para la unión a la IL1 $\beta$  inmovilizada. \*p < 0,05, en comparación con la unión de SILR1 solo.

5 La [Figura 5](#) muestra el efecto inhibitor de llantafin (SEQ ID NO: 1) sobre NF- $\kappa$ B activado por IL1 $\beta$ . El péptido llantafin se sintetizó como un dendrímero tetramérico (llantafin-d) unido a una cadena principal de lisina. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, en comparación con la barra en negro.

La [Figura 6](#) muestra el efecto inhibitor de llantafin (SEQ ID NO: 1) sobre NF- $\kappa$ B activado por IL1 $\beta$ . El péptido llantafin se sintetizó como un monómero (llantafin-m). \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, en comparación con la barra en negro.

10 La [Figura 7](#) muestra el efecto inhibitor de las proteínas ILRa (A) y SILR1 (B) sobre NF- $\kappa$ B activado por IL1 $\beta$ . \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001, en comparación con la barra en negro.

La [Figura 8](#) muestra que el efecto del péptido llantafin-d (dendrímero tetramérico de la SEQ ID NO: 1) es específico de la secuencia, ya que ni dos péptidos con secuencias mezcladas, llantafin scr-d1 (KQSAGKRSMS), llantafin scr-d2 (KASQKGMRSRS), ni un péptido con la secuencia inversa, llantafin rev-d (AQMKSSKRGS) inhiben la activación de NF- $\kappa$ B inducida por IL1 $\beta$ .

15 La [Figura 9](#) muestra que el efecto del péptido llantafin-d (dendrímero tetramérico de SEQ ID NO: 1) es específico de la diana (ILIRI), ya que el péptido no afecta a la activación de la señalización de STAT inducida por IL6.

La [Figura 10](#) muestra el efecto inhibitor de llantafin (SEQ ID NO: 1) sobre la secreción de TNF $\alpha$  por las células de macrófagos AMJ2-C8 activadas por IL1 $\beta$ . El péptido llantafin se sintetizó como un dendrímero tetramérico (llantafin-d) unido a una cadena principal de lisina. \*p < 0,05, en comparación con la barra en negro.

20 La [Figura 11](#) muestra el efecto inhibitor de llantafin (SEQ ID NO: 1) sobre la secreción de TNF $\alpha$  por células de macrófagos AMJ2-C8 activadas por IL1 $\beta$ . El péptido llantafin se sintetizó como un monómero (llantafin-m). \*p < 0,05, en comparación con la barra en negro.

La [Figura 12](#) muestra el efecto inhibitor de ILRa(A) y SIL1R1 sobre la secreción de TNF $\alpha$  por células de macrófagos AMJ2-C8 activadas por IL1 $\beta$ . \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, en comparación con la barra en negro.

La [Figura 13](#) muestra el efecto de llantafin (SEQ ID NO: 1), IL1Ra (B), SIL-1R1 (C) y IL1 $\beta$  (D) en la excrecencia de las neuritas en cultivos primarios de neuronas granulares del cerebelo. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, en comparación con los controles no tratados.

30 La [Figura 14](#) muestra que  $\beta$ IL1 compite con llantafin (SEQ ID NO: 1) e IL1Ra, inhibiendo de este modo la excrecencia de las neuritas inducida por llantafin (A) - e IL1Ra (B). \*p < 0,05, en comparación con la barra en negro.

La [Figura 15](#) muestra que llantafin (SEQ ID NO: 1), tanto como un dendrímero (llantafin-d, A) como un monómero (llantafin-m, B), potencia la supervivencia de las neuronas granulares del cerebelo inducidas para experimentar apoptosis mediante la reducción de la concentración de potasio. IGF - factor-1 de crecimiento similar a la insulina. Se muestran los resultados de los dos experimentos independientes.

35 La [Figura 16](#) muestra los resultados de un estudio *in vivo* empleando el modelo de artritis reumatoide inducida por colágeno en ratas. El tratamiento con llantafin-d (dendrímero tetramérico de SEQ ID NO: 1) abrogó un aumento de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, en comparación con el grupo de control no tratado.

40 La [Figura 17](#) muestra cómo llantafin reduce la morbilidad de los animales con AIC. La morbilidad se expresó como un porcentaje de los animales que alcanzó el índice clínico 7 y, por lo tanto, se sacrificaron para el día del ensayo. El péptido llantafin redujo significativamente la morbilidad en el dpi 12. \*p < 0,05 (prueba t no apareada con corrección de Welch).

45 La [Figura 18](#) muestra cómo el péptido llantafin atenúa la gravedad de la AIC (evaluación clínica). Un ANOVA de dos vías reveló un efecto significativo del tratamiento sobre la puntuación clínica de los animales con AIC [F(1, 238) = 18,05, p < 0,0001]. El péptido llantafin atenúa la gravedad de la AIC en 13-15 dpi. \*p < 0,05 (prueba t no apareada con corrección de Welch).

Se puede encontrar más información sobre las cifras en los ejemplos que figuran más adelante en el presente documento.

## 50 Definiciones y abreviaturas

IL1RA o IL1Ra: proteína antagonista del receptor de IL-1, que también se puede denominar antagonista del receptor de IL-1 en el presente documento.

55 IL1R1 o IL1RI: receptor de IL1 de tipo 1.

Afinidad: la fuerza de la unión entre los receptores y sus ligandos.

60 Llantafin/llantide: se usan indistintamente en el presente documento para referirse a fragmentos de IL-1RA; llantafin-8 se ha examinado en su mayoría y ha dado el identificador de secuencia SEQ ID NO: 1. SEQ ID NO: 1 también se puede indicar simplemente como "llantafin" o "llantide" en el presente documento.

65 El término "individuo" se refiere a vertebrados, determinados miembros de las especies de mamíferos, preferentemente primates, incluyendo los seres humanos. Como se usa en el presente documento, "sujeto" e "individuo" se pueden usar indistintamente.

Un "polipéptido" o una "proteína" es un polímero de restos de aminoácidos preferentemente unidos exclusivamente por enlaces peptídicos, bien producidos natural o sintéticamente. El término "polipéptido", como se usa en el presente documento, abarca proteínas, péptidos y polipéptidos, pudiéndose modificar o no dichas proteínas, dichos péptidos o dichos polipéptidos tras la traducción. En general, un péptido tiene una menor longitud que una proteína.

Un "polipéptido aislado" es un polipéptido que está esencialmente exento de componentes celulares contaminantes tales como hidratos de carbono, lípidos u otras impurezas proteináceas asociadas con el polipéptido en la naturaleza. Por lo general, un preparado de polipéptido aislado contiene el polipéptido en una forma altamente purificada, es decir, al menos aproximadamente el 80 % puro, al menos aproximadamente el 90 % puro, al menos aproximadamente el 95 % puro, más del 95 % puro o más del 99 % puro. Una manera de mostrar que un determinado preparado de proteína contiene un polipéptido aislado es por la aparición de una sola banda tras la electroforesis en gel de poliacrilamida y dodecilsulfato de sodio (SDS) del preparado de proteína y la tinción del gel con azul brillante Coomassie. Sin embargo, el término "aislado" no excluye la presencia del mismo polipéptido en formas físicas alternativas tales como dímeros o formas glucosiladas o derivatizadas de manera alternativa.

Un "resto de aminoácido" puede ser un resto de aminoácido natural o no natural enlazado con enlaces peptídicos o con enlaces distintos de los enlaces peptídicos. Los restos de aminoácidos pueden estar en la configuración D o en la configuración L. Un resto de aminoácido comprende una parte amino-terminal ( $\text{NH}_2$ ) y una parte carboxi-terminal ( $\text{COOH}$ ), separadas por una parte central que comprende un átomo de carbono, o una cadena de átomos de carbono, comprendiendo al menos uno de ellos al menos una cadena lateral o un grupo funcional.  $\text{NH}_2$  se refiere al grupo amino presente en el extremo amino-terminal de un aminoácido o péptido, y  $\text{COOH}$  se refiere al grupo carboxi presente en el extremo carboxi-terminal de un aminoácido o péptido. El término genérico aminoácido comprende aminoácidos tanto naturales como no naturales. Los aminoácidos naturales de la nomenclatura convencional enumerada en *J. Biol. Chem.*, 243: 3552-59 (1969) y adoptada en 37 C.F.R., sección 1.822 (b) (2) pertenecen al grupo de aminoácidos enumerados en la Tabla 1 que se presenta a continuación en el presente documento. Los aminoácidos no naturales son los que no se enumeran en la Tabla 1. Además, los restos de aminoácidos no naturales incluyen, pero sin limitación, los restos de aminoácidos modificados, restos de L-aminoácidos y estereoisómeros de los restos de D-aminoácidos.

Símbolos		Aminoácido
1 letra	3 letras	
Y	Tyr	tirosina
G	Gly	glicina
F	Phe	fenilalanina
M	Met	metionina
A	Ala	alanina
S	Ser	serina
I	Ile	isoleucina
L	Leu	leucina
T	Thr	treonina
V	Val	valina
P	Pro	prolina
K	Lys	lisina
H	His	histidina
Q	Gln	glutamina
E	Glu	ácido glutámico
W	Trp	triptófano
R	Arg	arginina
D	Asp	ácido aspártico
N	Asn	asparagina
C	Cys	cisteína

Tabla 1. Aminoácidos naturales y sus respectivos códigos.

Un "resto de aminoácido equivalente" se refiere a un resto de aminoácido capaz de reemplazar otro resto de aminoácido en un polipéptido sin alterar esencialmente la estructura ni/o la funcionalidad del polipéptido. Por lo tanto, los aminoácidos equivalentes tienen propiedades similares, tales como volumen de la cadena lateral, polaridad de la cadena lateral (polar o no polar), hidrofobicidad (hidrófoba o hidrófila), pH (ácido, neutro o básico) y organización en la cadena lateral de las moléculas de carbono (aromático/alifático). Como tales, los "restos de aminoácidos equivalentes" se pueden considerar "sustituciones de aminoácidos conservativas".

La clasificación de los aminoácidos equivalentes se refiere, en una realización, a las siguientes clases: 1) HRK, 2) DENQ, 3) C, 4) STPAG, 5) MILV y 6) FYW.

Dentro del significado de la expresión "sustitución de aminoácido equivalente", como se aplica en el presente documento, se puede sustituir un aminoácido por otro, en una realización, dentro de los grupos de aminoácidos indicados a continuación en el presente documento:

- i) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales polares (Asp, Glu, Lys, Arg, His, Asn, Gln, Ser, Thr, Tyr, y Cys)
- ii) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales no polares (Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Pro y Met)
- iii) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas (Gly, Ala Val, Leu, Ile)
- iv) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales cíclicas (Phe, Tyr, Trp, His, Pro)
- v) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas (Phe, Tyr, Trp)
- vi) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas (Asp, Glu)
- vii) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas (Lys, Arg, His)
- viii) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida (Asn, Gln)
- ix) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales de hidroxilo (Ser, Thr)
- x) Los aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre (Cys, Met),
- xi) Los aminoácidos débilmente hidrófobos, neutros (Pro, Ala, Gly, Ser, Thr)
- xii) Los aminoácidos ácidos, hidrófilos (Gln, Asn, Glu, Asp) y
- xiii) Los aminoácidos hidrófobos (Leu, Ile, Val).

Un "agente bioactivo" (es decir, sustancia/agente biológicamente activa/o) es cualquier agente, fármaco, compuesto, composición de materia o mezcla que proporciona algún efecto farmacológico, a menudo beneficioso, efecto que se puede demostrar *in vivo* o *in vitro*. Se puede referir a las secuencias de los péptidos llantafin/llantide, o a los compuestos que las comprenden. Como se usa en el presente documento, este término incluye además cualquier sustancia fisiológica o farmacológicamente activa que produzca un efecto localizado o sistémico en un individuo. Otros ejemplos adicionales de agentes bioactivos incluyen, pero sin limitación, agentes que comprenden o que consisten en un oligosacárido, agentes que comprenden o que consisten en un polisacárido, agentes que comprenden o que consisten en un péptido opcionalmente glucosilado, agentes que comprenden o que consisten en un polipéptido opcionalmente glucosilado, agentes que comprenden o que consisten en un ácido nucleico, agentes que comprenden o que consisten en un oligonucleótido, agentes que comprenden o que consisten en un polinucleótido, agentes que comprenden o que consisten en un lípido, agentes que comprenden o que consisten en un ácido graso, agentes que comprenden o que consisten en un éster de ácido graso y agentes que comprenden o que consisten en metabolitos secundarios. Se pueden usar bien de forma profiláctica, terapéutica, en relación con el tratamiento de un individuo, tal como un ser humano o cualquier otro animal.

Los términos "fármaco" y "medicamento", como se usan en el presente documento, incluyen sustancias biológica, fisiológica o farmacológicamente activas que actúan local o sistémicamente en el cuerpo humano o animal.

Los términos "tratar", "tratamiento" y "terapia", como se usan en el presente documento, se refieren igualmente a la terapia curativa, terapia profiláctica o preventiva y a la mejora o la terapia paliativa. El término incluye una metodología para la obtención de resultados fisiológicos beneficiosos o deseados, que se puede establecer clínicamente. Para los fines de la presente invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, el alivio de los síntomas, la reducción del grado de la enfermedad, la afección estabilizada (es decir, sin empeoramiento), el retraso o la ralentización de la progresión o del empeoramiento de la afección/los síntomas, la mejora o paliación de la afección o de los síntomas, y la remisión (bien parcial o total), bien detectable o indetectable. El término "paliación", y las variaciones del mismo, como se usan en el presente documento, significa que el alcance y/o las manifestaciones no deseadas de una afección fisiológica o de un síntoma se reducen y/o se ralentiza o se alarga el curso en el tiempo de la progresión, en comparación con no administrar las composiciones de la presente invención.

Un "efecto del tratamiento" o "efecto terapéutico" se manifiesta si hay un cambio en la afección que se está tratando, medido según los criterios que constituyen la definición de los términos "tratar" y "tratamiento". Hay un "cambio" en la afección que se está tratando si hay al menos una mejora del 5 %, preferentemente una mejora del 10 %, más preferentemente de al menos el 25 %, incluso más preferentemente de al menos el 50 %, tal como de al menos el 75 %, y lo más preferentemente, una mejora de al menos el 100 %. El cambio se puede basar en las mejoras de la gravedad de la afección tratada en un individuo, o en una diferencia en la frecuencia de las afecciones mejoradas en las poblaciones de individuos con y sin tratamiento con el agente bioactivo, o con el agente bioactivo en combinación con una composición farmacéutica de la presente invención.

Un tratamiento de acuerdo con la invención puede ser profiláctico, paliativo o curativo.

"Cantidad farmacológicamente eficaz", "cantidad farmacéuticamente eficaz" o "cantidad fisiológicamente eficaz" de un "agente bioactivo" es la cantidad de un agente activo presente en una composición farmacéutica como se describe en el presente documento que se necesita para proporcionar un nivel deseado de agente activo en el torrente sanguíneo o en el sitio de acción en un individuo (por ejemplo, los pulmones, el sistema gástrico, el sistema colorrectal, la próstata, etc.) que se va a tratar para dar una respuesta fisiológica anticipada cuando se administre dicha composición. La cantidad exacta dependerá de numerosos factores, por ejemplo, del agente activo, de la actividad de la composición, del dispositivo de administración empleado, de las características físicas de la composición, del uso previsto en el paciente (es decir, el número de dosis administradas al día), consideraciones del paciente, y similares, y puede ser determinada fácilmente por un experto en la materia, basándose en la información proporcionada en el presente documento. Una "cantidad eficaz" de un agente bioactivo puede administrarse en una

sola administración o por medio de múltiples administraciones de una cantidad que asciende a una cantidad eficaz, preferentemente en un período de 24 horas. Se puede determinar usando procedimientos clínicos convencionales para determinar las cantidades y los momentos de la administración apropiados. Se entiende que la "cantidad eficaz" puede ser el resultado de la determinación empírica y/o individualizada (caso por caso) por parte del profesional de atención sanitaria tratante y/o del individuo.

Los términos "potenciación" y "mejora" de un efecto beneficioso, y las variaciones de los mismos, como se usan en el presente documento, se refieren al efecto terapéutico del agente bioactivo en comparación con el placebo, o un aumento del efecto terapéutico de un tratamiento médico del estado de la técnica por encima del que se obtiene normalmente cuando se administra una composición farmacéutica sin el agente bioactivo de la presente invención. "Un aumento de los efectos terapéuticos" se manifiesta cuando hay una aceleración y/o un aumento de la intensidad y/o del grado de los efectos terapéuticos obtenidos como resultado de la administración del/de los agente/s bioactivo/s. También incluye la prolongación de la duración de los beneficios terapéuticos. También puede manifestarse cuando se requiere una menor cantidad de la composición farmacéutica para obtener los mismos beneficios y/o efectos cuando se administra conjuntamente con el/los agente/s bioactivo/s proporcionado/s por la presente invención en comparación con la administración en una mayor cantidad de la composición farmacéutica en ausencia de agente bioactivo. El efecto potenciador preferentemente, pero no necesariamente, da lugar al tratamiento de los síntomas agudos para los que la composición farmacéutica por sí sola no es eficaz o es menos eficaz terapéuticamente. La potenciación se logra cuando hay al menos un aumento del 5 % en los efectos terapéuticos, tal como un aumento de al menos el 10 % en los efectos terapéuticos cuando se administra un agente bioactivo de la presente invención junto con una composición farmacéutica en comparación con la administración de la composición farmacéutica sola. Preferentemente, el aumento es de al menos el 25 %, más preferentemente de al menos el 50 %, incluso más preferentemente de al menos el 75 %, más preferentemente de al menos el 100 %.

"Administrar conjuntamente" o "administración conjunta" de agentes bioactivos y medicamentos del estado de la técnica, como se usan en el presente documento, se refieren a la administración de uno o más agentes bioactivos de la presente invención, o la administración de uno o más agentes bioactivos de la presente invención y una composición farmacéutica del estado de la técnica en un cierto período de tiempo. El período de tiempo es preferentemente de menos de 72 horas, tal como de 48 horas, por ejemplo, de menos de 24 horas, tal como de menos de 12 horas, por ejemplo, de menos de 6 horas, tal como de menos de 3 horas. Sin embargo, estos términos también significan que el agente bioactivo y una composición terapéutica pueden administrarse conjuntamente.

Un "individuo que la necesita" se refiere a un individuo que puede beneficiarse de la presente invención. En una realización, dicho individuo que la necesita es un individuo enfermo, en el que dicha enfermedad puede ser una enfermedad inmune en la que IL-1 desempeña un papel destacado.

La expresión "kit de piezas", como se usa en la presente invención, proporciona uno o más péptidos, compuestos o composiciones de acuerdo con la presente invención y un segundo agente bioactivo para administrarse en combinación. Las partes del kit pretenden tener un uso simultáneo, separado o secuencial. El uso puede ser un uso terapéutico, tal como el tratamiento de la inflamación, en el que IL-1 desempeña un papel destacado.

Debido a la imprecisión de los métodos analíticos convencionales, se entiende que los pesos moleculares y las longitudes de los polímeros son valores aproximados. Cuando dicho valor se expresa como "aproximadamente" X, se entenderá que el valor indicado de X tiene una exactitud de  $\pm 20\%$ , tal como  $\pm 10\%$ , por ejemplo  $\pm 5\%$ .

## Descripción detallada

La presente invención es como se define en las reivindicaciones.

### Inflamación

La inflamación es parte de la respuesta biológica compleja de los tejidos vasculares a los estímulos nocivos tales como patógenos, células dañadas o agentes irritantes. La inflamación es un intento de protección por parte del organismo para eliminar los estímulos nocivos e iniciar el proceso de curación. La inflamación no es sinónimo de infección, incluso en los casos en los que la inflamación está causada por la infección. Aunque la infección está causada por un microorganismo, la inflamación es una de las respuestas del organismo al patógeno. La inflamación se puede clasificar como aguda o crónica. La inflamación aguda es la respuesta inicial del organismo a los estímulos nocivos, y se logra mediante el aumento del movimiento del plasma y de los leucocitos (especialmente de los granulocitos) de la sangre a los tejidos lesionados. Una cascada de eventos bioquímicos propaga y madura la respuesta inflamatoria, lo que implica al sistema vascular local, al sistema inmunológico y a varias células del tejido lesionado. La inflamación prolongada, conocida como inflamación crónica, conduce a un cambio progresivo en el tipo de las células presentes en la zona de la inflamación, y se caracteriza por la destrucción simultánea y la curación del tejido del proceso inflamatorio.

## Interleucinas

Las interleucinas son un grupo de citocinas (proteínas secretadas/moléculas de señalización) cuya expresión se observó por primera vez realizada por los glóbulos blancos (leucocitos). El término *interleucina* deriva de (*inter-*)  
 5 "como un medio de comunicación" y (-leucin) "que deriva del hecho de que muchas de estas proteínas son producidas por los leucocitos y actúan sobre los leucocitos". El nombre es una especie de reliquia, aunque, como ya se ha descubierto, las interleucinas son producidas por una amplia variedad de células. La función del sistema inmune depende en una gran parte de las interleucinas, y se han descrito deficiencias raras de una serie de ellas, todas ellas con enfermedades autoinmunes o inmunodeficiencia. La mayoría de las interleucinas son sintetizadas  
 10 por los linfocitos T CD4<sup>+</sup> auxiliares, así como a través de los monocitos, los macrófagos y las células endoteliales. Potencian el desarrollo y la diferenciación de los linfocitos T y B, y de las células hematopoyéticas.

### Interleucina-1 (IL-1)

15 La interleucina 1 (IL-1) es un nombre general para dos proteínas distintas, IL-1 alfa (IL1A) e IL-1 beta (IL1 B), que son las principales citocinas proinflamatorias. Estas participan en la regulación de las respuestas inmunes, reacciones inflamatorias, lesiones de tejidos y hematopoyesis. La familia de genes IL1 consiste en tres miembros, IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$  y IL1RA (proteína antagonista del receptor IL-1, también IL1Ra). IL1RA consiste en un barril  $\beta$  de seis cadenas, cerrado en un lado por tres bucles en horquilla  $\beta$ . Aunque IL1 $\alpha$  e IL1 $\beta$  son agonistas del receptor de IL1, IL1RA de origen natural funciona como un antagonista específico del receptor (Hallegua y Weisman, 2002).  
 20

#### *IL-1 alfa*

25 La interleucina-1 alfa (IL-1 $\alpha$ ) es una proteína que, en los seres humanos, está codificada por el gen *IL1A*. La interleucina-1 alfa posee un amplio espectro de actividades metabólicas, fisiológicas y hematopoyéticas, y desempeña uno de los papeles centrales en la regulación de las respuestas inmunes. Se une al receptor de la interleucina-1. IL-1 $\alpha$  es un miembro único de la familia de citocinas en el sentido de que la estructura de su precursor sintetizado inicialmente no contiene un fragmento de péptido señal (lo mismo se sabe para la IL-1  $\beta$  e IL-18). Tras el procesamiento mediante la eliminación de los aminoácidos N-terminales de proteasas específicas, el péptido resultante se denomina forma "madura". La calpaína, una cisteína proteasa activada por el calcio, asociada con la membrana plasmática, es principalmente responsable de la escisión del precursor de IL-1 $\alpha$  en una molécula madura. Tanto la forma precursora de 31 kDa de IL-1 $\alpha$  como su forma madura de 18 kDa son biológicamente activas.  
 30

35 La estructura tridimensional de la IL-1 $\alpha$  contiene un barril de extremo abierto compuesto enteramente de cadenas beta plisadas. El análisis de la estructura cristalina de la forma madura de IL-1 $\alpha$  muestra que tiene dos sitios de unión al receptor IL-1. Hay un sitio de unión primario, situado en la parte superior abierta de su barril, que es similar, pero no idéntico al de IL-1 $\beta$ .

40 La IL-1 $\alpha$  es producida constitutivamente por las células epiteliales, y se encuentra en cantidades sustanciales en la epidermis humana normal, donde tiene un papel esencial en el mantenimiento de la función de barrera de la piel. A excepción de los queratinocitos cutáneos, algunas células epiteliales y algunas células del sistema nervioso central, IL-1 $\alpha$  no se observa en individuos sanos en la mayoría de los tipos de células, tejidos y en la sangre. Una amplia variedad de otras células, solo tras la estimulación, puede ser inducida para transcribir los genes IL-1 $\alpha$  y producir la forma precursora de IL-1 $\alpha$ . Entre ellas, se encuentran los fibroblastos, los macrófagos, los granulocitos, los eosinófilos, los mastocitos y los basófilos, las células endoteliales, las plaquetas, los monocitos y las líneas celulares mieloides, los linfocitos T y los linfocitos B sanguíneos, los astrocitos, las células mesangiales del riñón, las células de Langerhans, las células dendríticas dérmicas, los linfocitos citolíticos naturales, los linfocitos granulares grandes, microglías, los neutrófilos sanguíneos, las células de nódulos linfáticos, las células placentarias maternas y otros  
 45 varios tipos de células.  
 50

La molécula reguladora más importante para la actividad de IL-1 $\alpha$  es IL-1RA, que se produce, por lo general, en un exceso molar de 10 a 100 veces. Además, la forma soluble de IL-1R de tipo I tiene una alta afinidad hacia IL-1 $\alpha$  y se produce en un exceso molar de 5-10. IL-10 también inhibe la síntesis de IL-1 $\alpha$ .

#### *IL-1 beta*

55 La interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), también conocida como catabolina, está codificada por el gen *IL1B*. El precursor de IL-1 $\beta$  es escindido por la caspasa 1 (interleucina 1 beta convertasa). La proteasa tiol citosólica escinde el producto a la forma madura de IL-1 $\beta$ .  
 60

La IL-1 $\beta$  es producida por macrófagos activados en forma de una proproteína, que es procesada proteolíticamente en su forma activa por la caspasa 1. Esta citocina es un mediador importante de la respuesta inflamatoria, y participa en una variedad de actividades celulares, incluyendo la proliferación, la diferenciación y la apoptosis celular. Se ha encontrado que la inducción de la ciclooxigenasa-2 (PTGS2/COX2) por esta citocina en el sistema nervioso central (SNC) contribuye a la hipersensibilidad al dolor inflamatorio. Este gen y otros ocho genes de la familia de la interleucina-1 forman un grupo de genes de citocinas en el cromosoma 2.  
 65

*Proteína antagonista del receptor de IL-1 (IL1RA)*

La proteína antagonista del receptor de interleucina-1 (IL1RA) está codificada por el gen *IL-1RN*. Inhibe las actividades de IL1A e IL1B, y modula una variedad de respuestas inmunes e inflamatorias relacionadas con IL-1.

5 Este gen y otros cinco genes de citocinas estrechamente relacionados forman un grupo de genes que abarca aproximadamente 400 kb del cromosoma 2. Se ha informado de cuatro variantes de la transcripción cortadas y empalmadas de forma alternativa que codifican distintas isoformas. Las mutaciones en el gen *IL1RN* generan una enfermedad rara denominada deficiencia del antagonista del receptor de la interleucina-1 (DIRA). Las variantes del gen *IL1RN* también se asocian con el riesgo de esquizofrenia. En cuanto a la similitud de las proteínas, la IL-1 $\beta$  está  
10 más estrechamente relacionada con IL-1RA de lo que lo está la IL-1 $\alpha$ . Los aminoácidos que son idénticos entre la IL-1 $\alpha$  humana madura y la IL-1 $\beta$  madura son un 22 %, mientras que pasan a un 26 % al comparar IL-1 $\beta$  con IL-1RA, y a solo un 18 % al comparar IL-1 $\alpha$  con IL-1RA.

15 La secuencia de IL1RA se desvela en el presente documento más adelante ("secuencias"), para las 4 isoformas de IL1RA.

Receptores de IL-1

20 La IL1 tiene dos receptores distintos, IL1RI e IL1RII (el receptor de IL-1 de tipo I y II, o 1 y 2, respectivamente). El IL1RI comprende una parte extracelular con tres módulos de tipo inmunoglobulina para la unión de IL1 y un dominio citoplasmático largo, mientras que IL1RII contiene el mismo ectodominio, pero un dominio citoplásmico más corto. Ambos receptores existen en la forma transmembrana (TM) y la forma soluble: se cree que los receptores de IL-1 solubles derivan de la escisión posterior a la traducción de la parte extracelular de los receptores de la membrana. Ambos receptores de IL-1 (CD121a/IL-1R1, CD121b/IL1R2) parecen estar bien conservados en la evolución, y se  
25 cartografían en la misma ubicación cromosómica. Ambos receptores pueden unirse a las tres formas de IL-1 (IL-1 alfa, IL-1 beta y IL-1RA).

30 IL1 se asocia con IL1RI con baja afinidad, y la unión de la proteína accesoria de IL1R (IL1R-AcP) al complejo produce una unión de alta afinidad que forma un complejo terciario asimétrico compuesto de IL1, IL1RI e IL1R-AcP, que da lugar a la activación del receptor, y la posterior transducción de la señal intracelular y respuestas celulares. IL1RA se une principalmente a IL1RI, pero no induce la transducción de señales, porque carece de un segundo sitio de unión. IL1RII es un receptor señuelo, porque la unión de IL1 a ILRII no puede desencadenar señales intracelulares. El IL1RA de origen natural y el receptor señuelo atenúan los efectos de la IL1, y por lo tanto, parece  
35 tratarse de un fenómeno único en la biología de las citocinas (Dinarello, 1996).

Fragmentos de péptidos

40 La presente divulgación se refiere a formas truncadas de IL1RA que tienen mejores propiedades frente a la proteína IL1RA de longitud completa y a anakinra. Las mejores propiedades de los péptidos cortos se refieren al aumento de la solubilidad, una mayor estabilidad y un menor coste de la síntesis. Además, el péptido conserva su capacidad para unirse a IL-1R1 e interferir con la unión de IL-1beta a este receptor; además de varios efectos aguas abajo deseables abordados en otra parte del presente documento.

45 El suministro de un péptido corto de acuerdo con la presente divulgación también permite el mejor paso de dicho péptido corto a través de la barrera hematoencefálica. Esto tiene especial interés en tanto en cuanto los presentes inventores han demostrado que la SEQ ID NO: 1 de 10 restos de aminoácidos tienen un efecto positivo sobre la excrecencia de las neuritas y la supervivencia de las células neuronales.

50 La barrera hematoencefálica (BHE) es una separación de la sangre circulante y del líquido cefalorraquídeo (LCR) en el sistema nervioso central (SNC), proporcionada para mantener la homeostasis. Así pues, la BHE bloquea eficazmente la entrada en el cerebro de la mayoría de las moléculas. Esto significa que se niega el acceso a muchos de los fármacos que, de otro modo, serían capaces de tratar los trastornos del SNC, a las mismas regiones en las que serían eficaces. Aunque la mayoría de los péptidos pueden ser capaces de penetrar en la BHE en cierta medida, existe una clara correlación entre el peso molecular (PM) de la proteína y el grado de penetración - por lo tanto, los péptidos no ramificados, más cortos, con un bajo PM tienen un mejor grado de penetración, lo que significa  
55 que se necesita una menor cantidad de péptido para que los péptidos de bajo PM alcancen concentraciones de trabajo en el cerebro.

60 Un péptido de acuerdo con la divulgación comprende un fragmento corto de la proteína IL1RA. En una realización, dicho péptido comprende o consiste en SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o un fragmento funcional o una variante de la misma.

65 Un "fragmento o una variante de la misma", como se usa en el presente documento, se refiere a fragmentos de la SEQ ID NO: 1 (longitud), variantes de la SEQ ID NO: 1 (identidad) y fragmentos variantes de la SEQ ID NO: 1 (identidad y longitud). Estos últimos se pueden denominar "fragmento variante".

Tanto los fragmentos y como las variantes de las secuencias de aminoácidos de acuerdo con la divulgación pretenden ser los equivalentes funcionales de dichas secuencias, es decir, conservan su capacidad para unirse a IL1R1.

5 Además, los péptidos cortos de la presente divulgación derivados de IL1RA comprenden o consisten en RIWDVNQKT (SEQ ID NO: 29), TAMEADQPVS (SEQ ID NO: 35) o GPNAKLEEKA (SEQ ID NO: 36) o variantes, fragmentos, o fragmentos variantes de las mismas; como se indica por SEQ ID NO: 1 en el presente documento.

10 En una realización preferida, los péptidos son específicos, en tanto en cuanto la secuencia del péptido no tiene o reduce esencialmente el efecto cuando la secuencia de aminoácidos es mezcla o se invierte. Además, los péptidos son preferentemente específicos del antagonismo del efecto de la IL-1, y no de otras proteínas ni interleucinas.

15 Un fragmento funcional o una variante de, por ejemplo, SEQ ID NO: 1 es un fragmento o una variante (o una variante de un fragmento) que conserva su capacidad para unirse a IL-1R1 e interferir con la unión de IL-1beta a dicho receptor, y/o mantiene la capacidad de afectar a los efectos aguas abajo a un nivel comparable con SEQ ID NO: 1 con respecto a la inhibición de la IL-1 inducida por la activación de NF- $\kappa$ B, la reducción de la liberación de TNF-alfa inducida por la IL-1 a partir de macrófagos, la inducción de la excrecencia de las neuritas y/o la potenciación de la supervivencia de las células neuronales. Lo mismo se aplica a SEQ ID NO: 29, 35 y 36.

20 En el presente contexto, se aplica el código convencional de una letra para los restos de aminoácidos, así como el código convencional de tres letras. Las abreviaturas para los aminoácidos están en conformidad con las recomendaciones de la Comisión Conjunta de la IUPAC-IUB sobre la Nomenclatura Bioquímica, *Eur. J. Biochem*, 1984, vol. 184, pág. 9-37. A lo largo de la solicitud, se usa bien el código de tres letras o el código de una letra para los aminoácidos naturales. Cuando no se especifica la forma L o D (isómeros ópticos), se ha de entender que el  
25 aminoácido en cuestión tiene la forma L natural, cf. *Pure & Appl. Chem.* Vol. (56(5) pág. 595-624 (1984) o la forma D, de modo que los péptidos formados pueden consistir en los aminoácidos de la forma L, la forma D o una secuencia de formas L y formas D mixta.

30 Cuando no se especifica nada, se ha de entender que el aminoácido C-terminal de un péptido existe como ácido carboxílico libre, pudiéndose también especificar como "-OH". Sin embargo, el aminoácido C-terminal de un péptido, en otra realización, puede ser el derivado amidado, que se indica como "NH<sub>2</sub>". Cuando no se establece nada más, el aminoácido N-terminal del péptido comprende un grupo amino libre, pudiéndose también especificar como "H-". Sin embargo, el aminoácido N-terminal de un péptido puede, en otra realización, ser el derivado acetilado, que se indica como "-acetilo" o "COCH<sub>3</sub>".  
35

40 En una realización, un péptido comprende al menos 5 de los veintidós aminoácidos incorporados de manera natural en los polipéptidos, denominados aminoácidos proteínogénicos o naturales. Entre ellos, 20 están codificados por el código genético universal. Los 2 restantes; la selenocisteína y la pirrolisina, se incorporan en las proteínas mediante mecanismos sintéticos exclusivos. Un péptido también puede comprender uno o más aminoácidos no proteínogénicos o no convencionales, no naturales.

En una realización preferida, el péptido consiste en o comprende SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o un fragmento o una variante, o un fragmento variante de la misma.

45 En otra realización de la presente divulgación, el péptido consiste en o comprende las SEQ ID NO: 29, 35 o 36, o un fragmento o una variante, o un fragmento variante de las mismas.

50 En una realización, el péptido comprende una secuencia de aminoácidos contigua de, como máximo, 14 aminoácidos, tal como, como máximo, 13 aminoácidos, por ejemplo, como máximo, 12 aminoácidos, por ejemplo, como máximo, 11 aminoácidos, tal como, como máximo, 10 aminoácidos, derivada de IL1RA que comprende SEQ ID NO: 1, o un fragmento o una variante, o un fragmento variante de la misma.

55 En una realización, el péptido consiste en 10 restos de aminoácidos contiguos de IL1RA que consisten en SEQ ID NO: 1. En otra realización, el péptido tiene una longitud total inferior o igual a 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13 o 14 restos de aminoácidos contiguos, derivada de IL1RA y comprende la SEQ ID NO: 1 o una variante o un fragmento, o un fragmento variante de la misma.

60 Un péptido puede consistir en 5-10 aminoácidos contiguos, tales como 6-10 aminoácidos contiguos, por ejemplo, 8-10 aminoácidos contiguos. En una realización, el péptido consiste en 5-6, tal como 6-7, por ejemplo, 7-8, tal como 8-9, por ejemplo, 9-10, tal como 10-11, por ejemplo, 11-12, tal como 12-13, por ejemplo, 13-14 aminoácidos contiguos que comprenden cualquiera de SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o una variante, un fragmento o un fragmento variante de las mismas.

65 En una realización, el péptido consiste en 5-6, tal como 6-7, por ejemplo, 7-8, tal como 8-9, por ejemplo, 9-10, tal como 10-11, por ejemplo, 11-12, tal como 12-13, por ejemplo, 13-14, tal como 14-15, por ejemplo, 15-16, tal como 16-17, por ejemplo, 17-18, tal como 18-19, por ejemplo, 19-20 aminoácidos contiguos que comprenden cualquiera

de SEQ ID NO: 29, 35 o 36, o una variante, un fragmento o un fragmento variante de las mismas.

En otra realización, el péptido comprende una secuencia de aminoácidos contigua que tiene una longitud total inferior o igual a 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 restos de aminoácidos contiguos, derivada de IL1RA que comprende las SEQ ID NO: 29, 35 o 36, o un fragmento o una variante, o un fragmento variante de las mismas.

En otra realización más, el péptido comprende o consiste en un fragmento de las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36 que comprende al menos 5 aminoácidos contiguos de dicha/s secuencia/s de péptido; tal como 5 aminoácidos contiguos, por ejemplo, 6 aminoácidos contiguos, tal como 7 aminoácidos contiguos, por ejemplo, 8 aminoácidos contiguos, tal como 9 aminoácidos contiguos de dicha/s secuencia/s de péptido.

En una realización, un fragmento de un péptido es un péptido que comprende al menos 5 aminoácidos contiguos de las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36; tal como 5 aminoácidos contiguos, por ejemplo, 6 aminoácidos contiguos, tal como 7 aminoácidos contiguos, por ejemplo, 8 aminoácidos contiguos, tal como 9 aminoácidos contiguos de las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36. Un fragmento de las SEQ ID NO: 1, 35 o 36 puede comprender, por tanto, entre 5 y 9 aminoácidos de dichas secuencias, y un fragmento de SEQ ID NO: 29 puede comprender, por tanto, entre 5 y 8 aminoácidos de dicha secuencia.

Una variante de un péptido, o una variante de un fragmento de dichos péptidos, puede ser una secuencia de aminoácidos que tenga al menos el 40 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o un fragmento de la misma, tal como al menos un 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de identidad con las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o un fragmento de las mismas, o un aminoácido que tenga del 40 al 50 % de identidad, por ejemplo, del 50 al 60 % de identidad, tal como del 60 al 70 % de identidad, por ejemplo, del 70 al 80 % de identidad, tal como del 80 al 90 %, por ejemplo, del 95 al 99 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o un fragmento de las mismas, definiéndose la identidad como un porcentaje de aminoácidos idénticos de dicha secuencia variante cuando se coteja con las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o una fragmento de las mismas.

La identidad entre secuencias de aminoácidos se puede calcular usando algoritmos bien conocidos tales como BLOSUM 30, BLOSUM 40, BLOSUM 45, BLOSUM 50, BLOSUM 55, BLOSUM 60, BLOSUM 62, BLOSUM 65, BLOSUM 70, BLOSUM 75, BLOSUM 80, BLOSUM 85 o BLOSUM 90, o simplemente comparando los aminoácidos específicos presentes en las posiciones correspondientes de dos secuencias peptídicas que se van a comparar.

El término "homología" se puede usar como sinónimo de identidad/identidad de secuencia.

Una variante de un péptido también puede ser una secuencia de aminoácidos que tenga aproximadamente el 10 % de coincidencias positivas de aminoácidos con las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o un fragmento de las mismas, tal como aproximadamente el 30 % de coincidencias positivas de aminoácidos, tal como aproximadamente el 40 % de coincidencias positivas de aminoácidos, por ejemplo, aproximadamente el 50 % de coincidencias positivas de aminoácidos, tal como aproximadamente el 60 % de coincidencias positivas de aminoácidos, por ejemplo, aproximadamente el 70 % de coincidencias positivas de aminoácidos, tal como aproximadamente el 80 % de coincidencias positivas de aminoácidos, por ejemplo, aproximadamente el 90 % de coincidencias positivas de aminoácidos, definiéndose una coincidencia de aminoácidos positiva como la presencia en la misma posición de dos secuencias comparadas de restos de aminoácidos que tienen propiedades físicas y/o químicas similares. Las coincidencias positivas particulares de aminoácidos son K con R, E con D, L con M, Q con E, I con V, I con L, A con S, Y con W, K con Q, S con T, N con S y Q con R.

Las variantes incluyen secuencias en las que un aminoácido alquilo está sustituido con un aminoácido alquilo, en las que un aminoácido aromático está sustituido con un aminoácido aromático, en las que un aminoácido que contiene azufre está sustituido con un aminoácido que contiene azufre, en las que un aminoácido que contiene hidroxilo está sustituido con un aminoácido que contiene hidroxilo, en las que un aminoácido ácido está sustituido con un aminoácido ácido, en las que un aminoácido básico está sustituido con un aminoácido básico, o en las que un aminoácido mono-carboxílico dibásico está sustituido con un aminoácido mono-carboxílico dibásico.

En otra realización, una variante de las secuencias de péptidos, o una variante de un fragmento de la secuencia peptídica, puede comprender al menos una sustitución, tal como una pluralidad de sustituciones introducidas independientemente entre sí. En una realización, la variante de péptido comprende 1, 2, 3, 4, 5 o 6 sustituciones de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36 o un fragmento de las mismas.

Las variantes de las SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o de fragmentos de las mismas, pueden comprender una o más sustituciones conservativas independientes entre sí, es decir, la sustitución de aminoácidos cuyas cadenas laterales tienen propiedades bioquímicas similares y, por lo tanto, no afectan a la función del péptido.

Entre los aminoácidos comunes, por ejemplo, una "sustitución de aminoácidos conservativa" también se puede ilustrar mediante una sustitución entre aminoácidos dentro de cada uno de los siguientes grupos: (1) glicina, alanina,

valina, leucina e isoleucina; (2) fenilalanina, tirosina y triptófano; (3) serina y treonina; (4) aspartato y glutamato; (5) glutamina y asparagina; y (6) lisina, arginina e histidina.

Los polipéptidos también pueden comprender restos de aminoácidos de origen no natural. Los aminoácidos de origen no natural incluyen, por ejemplo, sin limitación, *trans*-3-metilprolina, 2,4-metanoprolina, *cis*-4-hidroxioprolina, *trans*-4-hidroxioprolina, *N*-metilglicina, alo-treonina, metiltreonina, hidroxiletilesteína, hidroxietilhomocisteína, nitroglutamina, homoglutamina, ácido piperídico, ácido carboxílico de tiazolidina, deshidroprolina, 3- y 4-metilprolina, 3,3-dimetilprolina, *terc*-leucina, norvalina, 2-azafenilalanina, 3-azafenilalanina, 4-azafenilalanina y 4-fluorofenilalanina.

Las sustituciones conservativas (o sustituciones sinónimas) se pueden introducir en una cualquiera o más posiciones de un péptido o un fragmento del mismo, siempre y cuando la variante, o variante de un fragmento, siga siendo funcional. Sin embargo, también se puede desear introducir sustituciones no conservativas en una o más posiciones (sustituciones no sinónimas).

Una sustitución no conservativa que conduce a la formación de una variante del péptido diferiría, por ejemplo, esencialmente, en la polaridad, por ejemplo, un resto con una cadena lateral no polar (Ala, Leu, Pro, Trp, Val, Ile, Leu, Phe o Met) sustituido con un resto con una cadena lateral polar tal como Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn o Gln, o un aminoácido cargado tal como Asp, Glu, Arg o Lys, o la sustitución de una carga o de un resto polar con uno no polar; y/o ii) diferiría esencialmente en su efecto sobre la orientación de la cadena principal peptídica, tal como la sustitución de o para Pro o Gly con otro resto; y/o iii) diferiría esencialmente en la carga eléctrica, por ejemplo, la sustitución de un resto cargado negativamente tal como Glu o Asp con un resto cargado positivamente tal como Lys, His o Arg (y viceversa); y/o iv) diferiría esencialmente en el volumen estérico, por ejemplo, la sustitución de un resto voluminoso tal como His, Trp, Phe o Tyr con uno que tenga una cadena lateral menor, por ejemplo, Ala, Gly o Ser (y viceversa).

En una realización, la sustitución de aminoácidos se puede realizar en base a sus valores de hidrofobicidad e hidrofiliidad, y la similitud relativa de los sustituyentes de aminoácidos de la cadena lateral, incluyendo la carga, el tamaño, y similares.

En una realización, 1, 2 o 3 restos de serina (Ser) de SEQ ID NO: 1, o un fragmento de la misma, están sustituidos con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Gln, Asn y Thr (todos los aminoácidos con cadenas laterales polares sin carga); e independientemente de los mismos, la glicina (Gly) está sustituida con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, Val, Leu e Ile; e independientemente de la misma, al menos una arginina (Arg) está sustituida con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Lys y His (todos con cadenas laterales cargadas positivamente); e independientemente de la misma, 1 o 2 restos de lisina (Lys) están sustituidos con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Arg e His; e independientemente de los mismos, la metionina (Met) está sustituida con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Leu, Pro, Ile, Val, Phe, Tyr y Trp (todos con cadenas laterales hidrófobas); e independientemente de la misma, al menos una glutamina (Gln) está sustituida con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Asp, Glu y Asn; e independientemente de la misma, al menos una alanina (Ala) está sustituida con un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Gly, Val, Leu y Ile.

La SEQ ID NO: 1 consiste en 10 aminoácidos, indicados como las posiciones 1 a 10. En una realización, Ser de la posición 1 de SEQ ID NO: 1 permanece invariable, está eliminada o está sustituida con Gly; Gly de la posición 2 permanece invariable, está eliminada o está sustituida con Ala, Ser o Arg; Arg de la posición 3 permanece invariable, está eliminada o está sustituida con Lys; Lys de la posición 4 permanece invariable o está sustituida con Arg, Thr, Gln, Met, Gly o Ser; Ser de la posición 5 permanece invariable o está sustituida con Pro, Ala, Arg, Leu, Gln, Asn, Gly o Lys; Ser de la posición 6 permanece invariable o está sustituida con His, Gln, Trp, Asn, Glu, Pro, Ala, Thr, Cys, Gly o Arg; Lys de la posición 7 permanece invariable o está sustituida con Arg, His, Glu o Ser; Met de la posición 8 permanece invariable o está sustituida con Leu, Thr o Ser; Gln de la posición 9 permanece invariable, está eliminada o está sustituida con Glu, His o Lys; y/o Ala de la posición 10 permanece invariable, está eliminada o está sustituida con Leu o Met.

Además, una variante funcional de SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36 puede comprender una o más adiciones de aminoácidos dentro de o en cualquier extremo de dicha secuencia, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos añadidos dentro de o en cada extremo de SEQ ID NO: 1, 29, 35 o 36, o una variante, un fragmento o un fragmento variante de las mismas.

Los ejemplos de variantes, fragmentos y variantes de fragmentos de SEQ ID NO: 1 incluyen (los aminoácidos idénticos en comparación con SEQ ID NO: 1 están subrayados, y los aminoácidos "que faltan" o que están omitidos en comparación con SEQ ID NO: 1 están indicados con un "-"; se indica la puntuación de identidad total; en comparación con SEQ ID NO: 1):

SEQ ID NO:1	<u>SGRKSSKMQA</u>	('Ilantafin'/'Ilantide')
SEQ ID NO:2	<u>SGRKPSKMQA</u>	Identidad: 9/10 (90 %)
SEQ ID NO:3	<u>SGRKSQKM--</u>	Identidad: 7/8 (87,5 %)
SEQ ID NO:4	-- <u>RKASKLQA</u>	Identidad: 6/8 (75 %)
SEQ ID NO:5	<u>SARKSEKM--</u>	Identidad: 6/8 (75 %)
SEQ ID NO:6	<u>SGRQSPKM--</u>	Identidad: 6/8 (75 %)
SEQ ID NO:7	<u>SGRKSPHSLPA</u>	Identidad: 5/10 (50 %)
SEQ ID NO:8	<u>SSRQSSKM--</u>	Identidad: 6/8 (75 %)
SEQ ID NO:9	<u>SGKRPCKMQA</u>	Identidad: 6/10 (60 %)
SEQ ID NO:10	-- <u>RMNSKMQ-</u>	Identidad: 5/7 (71,4 %)
SEQ ID NO:11	-- <u>KSPKMQ-</u>	Identidad: 5/6 (83,3 %)
SEQ ID NO:12	-- <u>RKGGKMQ-</u>	Identidad: 5/7 (71,4 %)
SEQ ID NO:13	<u>SGRGKSSSKM</u>	Identidad: 4/10 (40 %)
SEQ ID NO:14	<u>GRRSSRKMPA</u>	Identidad: 5/10 (50 %)
SEQ ID NO:15	-- <u>RKANKLQA</u>	Identidad: 5/8 (62,5 %)
SEQ ID NO:16	<u>SGRKSHRLQ-</u>	Identidad: 6/9 (66,6 %)
SEQ ID NO:17	-- <u>RKAWKMQ-</u>	Identidad: 5/7 (71,4 %)
SEQ ID NO:18	-- <u>RKANKLQA</u>	Identidad: 5/8 (62,5 %)
SEQ ID NO:19	-- <u>GRRSSKTEA</u>	Identidad: 6/9 (66,6 %)
SEQ ID NO:20	-- <u>RTSSRMQ-</u>	Identidad: 5/7 (71,4 %)
SEQ ID NO:21	-- <u>GRKRSRMH-</u>	Identidad: 5/8 (62,5 %)
SEQ ID NO:22	-- <u>GRKRSKTQ-</u>	Identidad: 6/8 (75 %)
SEQ ID NO:23	<u>SGRKLAKLQ-</u>	Identidad: 6/9 (66,6 %)
SEQ ID NO:24	-- <u>RKSTEMEA</u>	Identidad: 5/8 (62,5 %)
SEQ ID NO:25	-- <u>RKQNKMEA</u>	Identidad: 5/8 (62,5 %)
SEQ ID NO:26	-- <u>RRSSRLQA</u>	Identidad: 5/8 (62,5 %)
SEQ ID NO:27	-- <u>RTSSRMQ-</u>	Identidad: 5/7 (71,4 %)

5 Una variante de un péptido también puede significar que la secuencia del péptido puede estar modificada. Una modificación puede ser cualquier modificación conocida por el experto, tal como las que se denominan modificaciones posteriores a la traducción. Estas incluyen acetilación, fosforilación, metilación, glucosilación, glicación, amidación, hidroxilación, desaminación, desamidación, carbamilación y sulfatación de uno o más restos de aminoácidos.

10 En una realización, el péptido no comprende ni consiste en la secuencia de aminoácidos RPSGRKSSKMQAFRI (SEQ ID NO: 37) ni/o no comprende ni consiste en la secuencia de aminoácidos LVAGY (SEQ ID NO: 38).

En una realización, el péptido es un péptido aislado.

15 En una realización, el péptido es un péptido de origen no natural; que se deriva de una proteína de origen natural (IL1RA). En una realización, se fabrica sintéticamente.

20 En una realización particular, los péptidos tienen un peso molecular en el intervalo de 100 Da a 5.000 Da, tal como de 100 Da a 250 Da, por ejemplo, de 250 Da a 500 Da, tal como de 500 Da a 750 Da, por ejemplo, de 750 a 1.000 Da, tal como de 1.000 Da a 1.500 Da, por ejemplo, de 1.500 Da a 2.000 Da, tal como de 2.000 Da a 3.000 Da, por ejemplo, de 3.000 Da a 4.000 Da, tal como de 4.000 Da a 5000 Da.

Es un aspecto proporcionar un péptido para uso como un medicamento.

#### Preparación sintética

25 Los métodos para la producción sintética de péptidos son bien conocidos en la materia. En "Synthetic Peptides: A User's Guide" (Advances in Molecular Biology), Grant G. A. ed., Oxford University Press, 2002, o en: "Pharmaceutical Formulation: Development of Peptides and Proteins", Frokjaer and Hovgaard eds., Taylor y Francis, 1999, se pueden encontrar descripciones detalladas, así como consejos prácticos para producir péptidos sintéticos.

30 Los péptidos se pueden sintetizar como monómeros, dímeros o tetrámeros (> 80 % de pureza, Schafer-N,

Copenhague, Dinamarca). Los dímeros y los tetrámeros consisten en dos y cuatro cadenas, respectivamente, en una realización, junto con una cadena principal de lisina.

5 En una realización, las secuencias de péptidos se producen sintéticamente, en particular, mediante el método de síntesis de péptidos asistida por secuencia (SAPS) o síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) de secuencia. Estos son bien conocidos por el experto.

10 Los péptidos se pueden sintetizar por lotes en un sintetizador de péptidos completamente automatizado usando 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc) o *terc*-butiloxycarbonilo (Boc) como grupo protector de N-a-amino y grupos de protección comunes adecuados para las funcionalidades de la cadena lateral.

15 Tras la purificación por HPLC de fase inversa, los péptidos se pueden procesar adicionalmente para obtenerse, por ejemplo, isoformas modificadas C- o N-terminales cíclicas. Los métodos para la ciclación y la modificación terminal son bien conocidos en la técnica.

### Compuesto

20 Es un aspecto proporcionar un compuesto que comprenda o que consista en un péptido. En una realización, dicho péptido se formula como un monómero (es decir, que comprende 1 copia del péptido), mientras que, en otra realización, dicho péptido se formula como un multímero.

Es un aspecto proporcionar un compuesto para su uso como un medicamento.

### *Compuesto multimérico*

25 Una secuencia de péptido se puede conectar a otra secuencia de péptido (idéntico o no idéntico) a través de un enlace químico o a través de un grupo enlazador. En algunas realizaciones, un péptido se puede formular como un oligómero o un multímero de monómeros, en el que cada monómero es como una secuencia de péptido según lo definido anteriormente en el presente documento.

30 Por lo tanto, un compuesto multimérico puede ser un polímero que comprenda dos o más secuencias de péptidos, siendo las secuencias de péptidos idénticas o no idénticas, en las que al menos una de las dos o más secuencias de péptidos es un péptido de acuerdo con la presente divulgación. Preferentemente, las dos secuencias de péptidos son un péptido de acuerdo con la presente divulgación.

35 En una realización, el compuesto multimérico es un dímero que comprende dos péptidos de acuerdo con la presente divulgación, siendo dichos dos péptidos idénticos o no idénticos entre sí.

40 En otra realización, el compuesto multimérico es un trímero o un tetrámero que comprende tres o cuatro péptidos de acuerdo con la presente divulgación, respectivamente, siendo dichos péptidos idénticos o no idénticos entre sí.

45 En una realización, el compuesto multimérico es un dendrímero tal como un dendrímero tetramérico. Los dendrímeros son moléculas grandes más o menos esféricas, ramificadas repetidamente, normalmente simétricas alrededor del núcleo y que, a menudo, adoptan una morfología tridimensional esférica. Los dendrímeros pueden comprender 4 péptidos, 8 péptidos, 16 péptidos o 32 péptidos; preferentemente cuatro péptidos (es decir, dendrímero tetramérico).

50 En algunas realizaciones particulares, el compuesto multimérico puede comprender dos secuencias de aminoácidos idénticas (dímero) o el compuesto puede comprender cuatro copias idénticas de una secuencia de aminoácidos (dendrímero tetramérico).

55 Los multímeros se pueden fabricar mediante la unión de dos o más monómeros de péptido mediante un enlace peptídico o un grupo enlazador. Pueden estar unidos a una cadena principal de lisina, tal como un resto de lisina (un solo resto de lisina), o acoplados a un vehículo polimérico, por ejemplo, un vehículo de proteína. Dicho grupo enlazador, en una realización, comprende una pluralidad de restos de lisina, tal como una fracción de núcleo que tiene una pluralidad de restos de lisina. Sin embargo, se puede prever cualquier otro enlace de monómeros peptídicos conocido por el experto en la materia.

60 En una realización, la unión puede producirse en el extremo N-terminal o C-terminal de los monómeros peptídicos.

### Métodos

65 También es un aspecto proporcionar un método de estimulación de la excrecencia de las neuritas y/o de fomento de la supervivencia de las neuronas, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de un péptido, de un compuesto o de una composición de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que la necesita.

También se desvela un método para interferir con la unión de IL1RI a IL-1, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de un péptido, de un compuesto o de una composición de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que la necesita.

- 5 En una realización preferida, dicho individuo es un ser humano tal como un ser humano que tiene una enfermedad neurodegenerativa.

La divulgación también se refiere a un método de identificación de parejas de unión para los péptidos descritos en el presente documento, comprendiendo dicho método las etapas de extraer el polipéptido y aislar dichas parejas de unión.

#### Formulación farmacéutica

15 Si bien es posible que los péptidos o los compuestos de la presente divulgación se administren como producto químico (o péptido) en bruto, a veces se prefiere presentarlos en forma de una formulación farmacéutica. Dicha formulación farmacéutica se puede denominar composición farmacéutica, o composición farmacéuticamente aceptable o segura.

20 Por consiguiente, la presente divulgación proporciona además una formulación farmacéutica que comprende un péptido o un compuesto de la presente divulgación, o una sal o un éster farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable/s. Las formulaciones farmacéuticas se pueden preparar mediante técnicas convencionales, por ejemplo, como se describe en "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 2005, Lippincott, Williams & Wilkins.

25 Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser bien sólidos o líquidos. Los preparados en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, sellos, supositorios y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser uno o más excipientes que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes humectantes, agentes disgregantes de comprimidos o un material encapsulante.

30 Los ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, terra alba, sacarosa, ciclodextrina, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, ácido esteárico o éteres de alquilo inferior de celulosa. Los ejemplos de vehículos líquidos son jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, fosfolípidos, ácidos grasos, aminas de ácidos grasos, polioxietileno, agua, solución salina o una solución de glucosa. De manera similar, el vehículo o diluyente puede incluir cualquier material de liberación sostenida conocido en la técnica, tal como monoestearato de glicerol o diestearato de glicerol, solo o mezclado con una cera.

40 También se incluyen preparados en forma sólida que están destinados a convertirse, poco antes de su uso, en preparados en forma líquida. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estos preparados pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromatizantes, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares.

45 Los compuestos se pueden formular para la administración parenteral, y se pueden presentar en forma de dosis unitarias en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen o en recipientes multidosis, opcionalmente, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, por ejemplo, soluciones en polietilenglicol acuoso.

50 Los ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos oleosos o no acuosos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales (por ejemplo, aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables (por ejemplo, oleato de etilo), y pueden contener agentes tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes o de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo, obtenido mediante el aislamiento aséptico del sólido estéril o mediante la liofilización de la solución para la constitución antes de su uso con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua apirógena, estéril.

55 Los compuestos también se pueden formular para la administración tópica. Las regiones para la administración tópica incluyen la superficie de la piel y también los tejidos de las membranas mucosas de la vagina, del recto, de la nariz, de la boca y de la garganta. La formulación tópica puede incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable adaptado a la administración tópica. Por lo tanto, la composición puede adoptar la forma de suspensión, solución, pomada, loción, lubricante sexual, crema, espuma, aerosol, pulverizado, supositorio, implante, inhalante, comprimido, cápsula, polvo seco, jarabe, bálsamo o gragea, por ejemplo.

65 La formulación farmacéutica descrita en el presente documento se puede administrar por vía transdérmica. La administración transdérmica normalmente implica la administración de un compuesto para el paso percutáneo del fármaco a la circulación sistémica del paciente. Las zonas de la piel incluyen regiones anatómicas para la administración transdérmica del fármaco, e incluyen el antebrazo, el abdomen, el pecho, la espalda, las nalgas, el área mastoidea, y similares.

La administración transdérmica se realiza mediante la exposición de una fuente del compuesto a la piel de un paciente durante un período prolongado de tiempo. Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar la administración controlada de un complejo de agente farmacéutico-modificador químico al organismo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar mediante disolución, dispersión o de otra manera que incorpore el complejo de agente farmacéutico-modificador químico en un medio adecuado, tal como un material de matriz elastomérica. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar bien proporcionando una membrana controladora de la velocidad, o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o un gel. Por ejemplo, se puede preparar un parche adhesivo sencillo a partir de un material de soporte y un adhesivo de acrilato.

Las lociones también incluyen las adecuadas para la aplicación en el ojo. Una loción ocular puede comprender una solución acuosa estéril que contenga opcionalmente un bactericida.

Las formulaciones para su uso en la administración nasal, pulmonar y/o bronquial se administran normalmente en forma de aerosoles para asegurar que la dosis aerosolizada alcance realmente las membranas mucosas de las fosas nasales, el tracto bronquial o el pulmón. La expresión "partícula de aerosol" se usa en el presente documento para describir la partícula líquida o sólida adecuada para la administración nasal, bronquial o pulmonar, es decir, la que alcanzará las membranas mucosas.

Por lo general, aerosoles se administran mediante el uso de dispositivos mecánicos diseñados para la administración pulmonar y/o bronquial, incluyendo, pero sin limitación, nebulizadores, inhaladores de dosis medidas e inhaladores de polvo. Con respecto a la construcción del dispositivo de administración, se puede usar cualquier forma de aerosolización conocida en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, botellas pulverizadoras, nebulización, atomización o aerosolización con bomba de una formulación líquida, y la aerosolización de una formulación de polvo seco.

Las formulaciones de aerosol líquidas contienen, en general, un compuesto en un diluyente farmacéuticamente aceptable. Los diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, agua estéril, solución salina, solución salina tamponada, solución de dextrosa, y similares.

Las formulaciones para su dispersión desde un dispositivo inhalador de polvo normalmente comprenderán un polvo seco finamente dividido que contendrá la composición farmacéutica y que también podrá incluir un agente de carga tal como lactosa, sorbitol, sacarosa o manitol en cantidades que faciliten la dispersión del polvo desde el dispositivo. Las formulaciones de polvo seco para la inhalación también pueden formularse usando cápsulas rellenas de polvo, en particular, cápsulas de material seleccionado entre los plásticos sintéticos.

La formulación se formula para el tipo de dispositivo empleado, y puede implicar el uso de un material propulsor apropiado, además de los diluyentes, adyuvantes y/o vehículos habituales que son útiles en terapia y conocidos para el experto en la materia. El propulsor puede ser cualquier propulsor usado en general en la técnica. Los ejemplos específicos no limitantes de dichos propulsores útiles son clorofluorocarbono, un hidrofluorocarbono, un hidroclorofluorocarbono o un hidrocarburo.

Las formulaciones también pueden incluir otros agentes útiles para el mantenimiento del pH, la estabilización de la solución o para la regulación de la presión osmótica.

También se pretenden englobar las sales farmacéuticamente aceptables de los presentes compuestos, donde se pueden preparar. Estas sales serán aquellas que sean aceptables en su aplicación para un uso farmacéutico. Esto significa que la sal conservará la actividad biológica del compuesto precursor y que la sal no tendrá efectos adversos ni perjudiciales en su aplicación ni uso en el tratamiento de enfermedades.

Las sales farmacéuticamente aceptables se preparan de una manera convencional. Si el compuesto precursor es una base, se trata con un exceso de un ácido orgánico o inorgánico en un disolvente adecuado. Si el compuesto precursor es un ácido, se trata con una base inorgánica u orgánica en un disolvente adecuado.

Los compuestos se pueden administrar en forma de una sal de metal alcalino o de metal alcalinotérreo de los mismos, concurrentemente, simultáneamente o junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, especial y preferentemente en forma de una composición farmacéutica del mismo, bien por vía oral, rectal o parenteral (incluyendo la subcutánea), en una cantidad eficaz.

Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables para su uso en la presente composición farmacéutica de la invención incluyen las derivadas de ácidos minerales tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y ácidos orgánicos tales como tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, *p*-toluenosulfónico, y arilsulfónico, por ejemplo.

65

Dosis

Los requisitos de dosis pueden variar con la composición del fármaco empleada en particular, la vía de administración y el sujeto que se esté tratando en particular. También será reconocido por un experto en la materia que la cantidad y el espaciamiento óptimos de las dosis individuales de un compuesto estarán determinados por la naturaleza y por el grado de la afección que se esté tratando, la forma, la vía y el sitio de administración, y el paciente que se esté tratando en particular, y que dichos valores óptimos pueden determinarse mediante técnicas convencionales. También apreciará el experto en la materia que el curso óptimo de tratamiento, es decir, el número de dosis de un compuesto dado al día durante un número definido de días, se puede determinar usando el curso convencional de ensayos de determinación del tratamiento.

La pauta posológica parenteral diaria puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal total, tal como de 0,1 a 1 mg/kg, de 1 a 5 mg/kg, de 5 a 10 mg/kg, de 10 a 15 mg/kg, de 15 a 20 mg/kg, de 20 a 30 mg/kg, de 30 a 40 mg/kg, de 40 a 50 mg/kg, de 50 a 60 mg/kg, de 60 a 70 mg/kg, de 70 a 80 mg/kg, de 80 a 90 mg/kg y de 90 a 100 mg/kg de peso corporal total. La dosis se puede evaluar usando un modelo según lo descrito en el Ejemplo 7 del presente documento, en el que se usa una dosis diaria de 3,3 o 10 mg/kg en ratones.

Se puede administrar una dosis una vez al día, o con una frecuencia superior o inferior a una vez al día. Por ejemplo, se puede administrar una dosis 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces al día. Como alternativa, se puede administrar una dosis con intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días.

Cuando se usa el "nivel eficaz" como el punto final preferido para la dosificación, la dosis real y el horario pueden variar, dependiendo de las diferencias interindividuales en cuanto a la farmacocinética, la distribución del fármaco y el metabolismo. El "nivel eficaz" se puede definir, por ejemplo, como el nivel en sangre o tejido deseado en el paciente que se corresponde a una concentración de un compuesto de acuerdo con la divulgación.

Administración

Las principales vías de administración son la vía oral y parenteral para introducir un compuesto en el torrente sanguíneo con el fin de dirigirlo, en última instancia, a zonas de acción deseadas. La administración oral es menos preferida para los compuestos proteicos debido a la degradación en el tracto gastrointestinal. La administración parenteral es cualquier vía de administración distinta de la vía oral/enteral, mediante la que el compuesto evita la degradación de primer paso en el hígado. Por consiguiente, la administración parenteral incluye inyecciones e infusiones, por ejemplo, inyección de bolo o infusión continua tal como la administración intravenosa, la administración intramuscular y la administración subcutánea. Además, la administración parenteral incluye inhalaciones y la administración tópica.

Dado que los péptidos son susceptibles a la degradación cuando se ingieren, se prefiere la administración parenteral. El péptido de la presente divulgación tiene una alta solubilidad que no muestra potencial para la agregación, lo que le permite formularse para y administrarse, por ejemplo, por vía intranasal y subcutánea.

Administración conjunta

En una realización, la presente divulgación se refiere a la administración conjunta de un péptido, de un compuesto o de una composición de acuerdo con la presente divulgación, junto con uno o más otros agentes bioactivos.

En una realización, la presente divulgación se refiere a la administración conjunta de un péptido, de un compuesto o de una composición de acuerdo con la presente divulgación, junto con uno o más fármacos antiinflamatorios.

En una realización, la presente divulgación se refiere a la administración conjunta de un péptido, de un compuesto o de una composición de acuerdo con la presente divulgación, junto con uno o más fármacos antirreumáticos.

En una realización, la presente divulgación se refiere a la administración conjunta de un péptido, de un compuesto o de una composición de acuerdo con la presente divulgación, junto con uno o más fármacos antineurodegenerativos.

De ello se desprende, que la administración conjunta debe dirigirse de manera que se optimice el tratamiento del paciente; es decir, en un paciente con artritis reumatoide, un fármaco aprobado para este fin específico puede complementarse con el péptido, el compuesto o la composición de acuerdo con la presente divulgación para optimizar y mejorar los resultados del tratamiento para el paciente. Esto es independientemente de si el fármaco aprobado para el fin específico es profiláctico, de mejora o curativo.

Kit de piezas

La presente divulgación también se refiere a un kit de piezas que comprende uno o más de los péptidos, compuestos o composición descritos anteriormente, y al menos un componente adicional. Dicho componente

adicional puede ser fármacos para el tratamiento de una afección inflamatoria, diabetes mellitus, una enfermedad neurodegenerativa etc.

### Trastornos inflamatorios

5 Las anomalías asociadas con la inflamación comprenden un grupo grande, no relacionado, de trastornos que subyacen a una variedad de enfermedades humanas. El sistema inmune suele participar en los trastornos inflamatorios, lo que se demuestra tanto en las reacciones alérgicas como en algunas miopatías, generando muchos trastornos del sistema inmune una inflamación anómala. Se cree que las enfermedades no inmunes con orígenes etiológicos en los procesos inflamatorios incluyen el cáncer, la aterosclerosis y la enfermedad cardíaca isquémica. Hay una gran variedad de proteínas implicadas en la inflamación, y cualquiera de ellas está abierta a una mutación genética que anule o desregule de otro modo la función normal y la expresión de esa proteína.

15 Poco después del inicio de una infección en el organismo, la IL-1 activa un conjunto de procesos de respuesta del sistema inmune. En particular, la IL-1 estimula la proliferación de los fibroblastos; induce la síntesis de proteasas, la posterior proteólisis muscular, la liberación de todos los tipos de aminoácidos en la sangre y estimula la síntesis de proteínas en fase aguda; cambia el contenido de iones metálicos del plasma sanguíneo mediante el aumento del cobre, y la reducción de la concentración de cinc y de hierro en sangre; aumenta los neutrófilos sanguíneos y activa la proliferación de los linfocitos, e induce fiebre.

20 Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de trastornos inflamatorios, especialmente trastornos inflamatorios en los que la IL-1 desempeña un papel destacado.

25 También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos inflamatorios, especialmente trastornos inflamatorios en los que la IL-1 desempeña un papel destacado.

30 En un aspecto adicional, se proporciona un método para el tratamiento de un trastorno inflamatorio, tal como un trastorno inflamatorio en el que la IL-1 desempeña un papel destacado, que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

35 En una realización, una enfermedad inflamatoria seleccionada del grupo que consiste en acné vulgar, asma, aterosclerosis, enfermedades inmunitarias, enfermedad de Behçet, inflamación crónica, prostatitis crónica, dermatitis, gota, glomerulonefritis, hipersensibilidades (incluyendo el tipo 1 (inmediata o atópica, o anafiláctica) que comprenden asma alérgica, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica (fiebre del heno), anafilaxia, angioedema, urticaria (ronchas), eosinofilia y la respuesta a la penicilina y la cefalosporina; de tipo 2 (dependiente de anticuerpos), que comprenden anemia hemolítica autoinmune, síndrome de Goodpasture, hepatitis, SII (síndrome del intestino irritable), artritis idiopática juvenil (AIJ), pénfigo, anemia perniciosa (si es autoinmune), soriasis, artritis sorriásica, trombocitopenia inmune, reacciones de transfusión, tiroiditis de Hashimoto, cistitis intersticial, enfermedad de Graves, miastenia gravis, fiebre reumática, enfermedad hemolítica del recién nacido y rechazo agudo de trasplante; de tipo 3 (complejos inmunes) que comprenden artritis reumatoide, glomerulonefritis compleja inmune, enfermedad del suero, endocarditis bacteriana, subaguda, síntomas de la malaria, lupus eritematoso sistémico (LES), reacción de Arthus, pulmón de granjero y poliarteritis nodosa; de tipo 4 (hipersensibilidad mediada por células o de tipo retardado DTH) que comprenden dermatitis de contacto, dermatitis atópica (eczema), arteritis temporal, sarcoidosis, síntomas de la lepra, síntomas de la tuberculosis, esclerosis sistémica, test de Mantoux, enfermedad celíaca y rechazo crónico de trasplante), enfermedades inflamatorias intestinales (incluyendo enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colágena, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis de desviación, síndrome de Behçet, colitis infecciosa y colitis indeterminada), miopatías (incluyendo dermatomiositis, polimiositis y miositis por cuerpos de inclusión), enfermedad inflamatoria pélvica, Podagra, lesión por reperusión, artritis reumatoide, rechazo de trasplantes y vasculitis, pueden ser objeto de uso o tratamiento de acuerdo con la presente divulgación.

50 En una realización, las enfermedades inmunitarias seleccionadas del grupo que consiste en aclorhidria, hepatitis crónica activa autoinmune, encefalomiелitis aguda diseminada (EAD), leucoencefalitis hemorrágica aguda, enfermedad de Addison, agammaglobulinemia, alergias, alopecia universal, esclerosis lateral amiotrófica, anafilaxia, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, anemia aplásica, asma, ataxia-telangiectasia, enfermedades inmunitarias, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, ooforitis autoinmune, enfermedad de Behçet, celiaquía/enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas, enfermedad de Crohn, síndrome de fatiga crónica, enfermedad granulomatosa crónica, inmunodeficiencia variable común, diabetes mellitus de tipo 1, síndrome de DiGeorge, disautonomía, electrosensibilidad, endometriosis, fiebre mediterránea familiar, penfigoide gestacional, síndrome de Goodpasture, enfermedad del injerto contra el huésped, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré (SGB), enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, infecciones por VIH, síndrome de hiper-IgM, hipersensibilidad, deficiencia de IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, deficiencia de subclase IgG, enfermedades complejas inmunitarias, enfermedades del sistema inmunitario, síndromes de inmunodeficiencia, cistitis intestinal, enfermedad de Kawasaki, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, enfermedad de Lyme, trastornos linfoproliferativos, enfermedad mixta del tejido conectivo, morfea, sensibilidad química múltiple, esclerosis múltiple (EM), miastenia gravis, narcolepsia, neuromiotonía, síndrome opsoclonus-mioclonus (SOM), neuritis óptica, tiroiditis

de Ord, pénfigo, anemia perniciosa, polimiositis, artritis poliarticular, cirrosis biliar primaria, soriasis, artritis soriásica, púrpura, artritis reumatoide (AR), síndrome de Reiter, síndrome de Samter, sarcoidosis, esquizofrenia, Schoenlein-Henoch, esclerodermia, deficiencia selectiva de IgA, inmunodeficiencia combinada severa (ICS), síndrome del edificio enfermo, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso sistémico (LES), arteritis de Takayasu (arteritis de células gigantes), colitis ulcerosa, uveítis, vitíligo, vulvodinia, anemia hemolítica autoinmune caliente, granulomatosis de Wegener y síndrome de Wiskott-Aldrich, pueden ser objeto de uso o tratamiento de acuerdo con la presente divulgación.

*Artritis reumatoide*

Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la artritis reumatoide.

También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la artritis reumatoide.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la artritis reumatoide que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

La artritis reumatoide (AR) es un trastorno inflamatorio crónico, sistémico, que puede afectar a muchos tejidos y órganos, pero que ataca principalmente a las articulaciones sinoviales. El proceso patológico produce una respuesta inflamatoria de la membrana sinovial (sinovitis) secundaria a la hiperplasia de las células sinoviales, exceso de líquido sinovial y desarrollo de pannus (capa anómala de tejido fibrovascular o tejido de granulación) en la membrana sinovial. La patología del proceso de la enfermedad suele conducir a la destrucción del cartílago articular y a la anquilosis (rigidez) de las articulaciones. La artritis reumatoide también puede producir inflamación difusa en los pulmones, pericardio, pleura y esclerótica, y también lesiones nodulares, más comunes en el tejido subcutáneo. Aunque se desconoce la causa de la artritis reumatoide, la autoinmunidad desempeña un papel fundamental tanto en su cronicidad como en su progresión, y la AR se considera una enfermedad autoinmune sistémica.

Son varios los tratamientos disponibles en la actualidad. El tratamiento no farmacológico incluye terapia física, ortesis, terapia ocupacional y terapia nutricional, pero no detiene la progresión de la destrucción de las articulaciones. La analgesia y los fármacos antiinflamatorios, incluyendo los esteroides, se usan para suprimir los síntomas, mientras que se requieren fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD) para inhibir o detener el proceso inmune subyacente y evitar daños a largo plazo. En los últimos tiempos, el nuevo grupo de productos biológicos ha aumentado las opciones de tratamiento.

*Gota/Podagra*

Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la gota y/o podagra.

También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la gota y/o podagra.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la gota y/o podagra que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

La gota (también conocida como podagra cuando implica el dedo gordo de la pata) es una afección médica que normalmente se caracteriza por ataques recurrentes de artritis inflamatoria aguda - enrojecimiento, sensibilidad, calor, inflamación de las articulaciones. La articulación metatarsofalángica de la base del dedo gordo de la pata es la más afectada (~50 % de los casos). Sin embargo, también puede presentarse como tofos (depósito de cristales de urato monosódico), cálculos renales o nefropatía por urato. Está causada por niveles elevados de ácido úrico en sangre que se cristalizan y se depositan en las articulaciones, los tendones y los tejidos circundantes. El diagnóstico se confirma clínicamente por la visualización de los cristales característicos en el líquido articular.

Las modalidades de tratamiento actuales incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), esteroides o colchicina para mejorar los síntomas. Una vez que el ataque agudo ha desaparecido, los niveles de ácido úrico se suelen reducir a través de cambios en el estilo de vida, y en aquellas personas que sufren ataques frecuentes, el alopurinol o el probenecid proporcionan una prevención a largo plazo.

*AIJ (artritis idiopática juvenil)*

Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la AIJ.

También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un

medicamento para el tratamiento de la AIJ.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la AIJ que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

5 La artritis idiopática juvenil (AIJ) es la forma más común de artritis persistente en niños. En el presente contexto, el término “juvenil” se refiere a un inicio previo a los 16 años, “idiopática” se refiere a una afección sin causa definida, y “artritis” es la inflamación de la membrana sinovial de una articulación. La JIA es un subconjunto de la artritis que se observa en la infancia, que puede ser transitoria y autolimitada, o crónica. Se diferencia significativamente de la  
10 artritis que se observa comúnmente en los adultos (artrosis, artritis reumatoide), y de otros de tipos de artritis que se pueden presentar en la infancia, que son afecciones crónicas (por ejemplo, la artritis soriásica y la espondilitis anquilosante). La AIJ es una enfermedad inmunitaria.

15 *Diabetes mellitus*

Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la diabetes mellitus.

20 También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes mellitus.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la diabetes mellitus que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

25 En una realización, dicha diabetes mellitus es la diabetes mellitus de tipo I. En otra realización, dicha diabetes mellitus es la diabetes mellitus de tipo II.

30 La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas en las que una persona tiene un nivel alto de azúcar en sangre, ya sea porque el organismo no produce suficiente insulina o porque las células no responden a la insulina que se produce. Este nivel alto de azúcar en sangre produce los síntomas clásicos de la poliuria (orinar con frecuencia), polidipsia (aumento de la sed) y polifagia (aumento del apetito).

- 35 • Diabetes de tipo 1: se produce por la incapacidad del organismo para producir insulina y, en la actualidad, es necesario que la persona se inyecte la insulina. (También se conoce como diabetes mellitus insulino-dependiente, DMID, para abreviar, y diabetes juvenil). La diabetes mellitus de tipo 1 se caracteriza por la pérdida de las células beta, productoras de insulina de los islotes de Langerhans en el páncreas, lo que conduce a la deficiencia de insulina. Este tipo de diabetes se puede clasificar además como de mediación inmunitaria o idiopática. La mayoría de las diabetes de tipo 1 está mediada inmunitariamente, donde la pérdida de células beta es un ataque autoinmune mediado por los linfocitos T.
- 40 • Diabetes de tipo 2: se produce por la resistencia a la insulina, una afección en la que las células no pueden usar la insulina adecuadamente, a veces combinada con una deficiencia absoluta de insulina. (Anteriormente denominada diabetes mellitus no insulino-dependiente, DMNID, para abreviar, y diabetes del adulto). La diabetes mellitus de tipo 2 se caracteriza por la resistencia a la insulina, que se puede combinar con una reducción relativa de la secreción de insulina. Se cree que la capacidad defectuosa de la respuesta de los tejidos corporales a la insulina implica al receptor de la insulina. La diabetes de tipo 2 se debe principalmente a factores del estilo de vida y a la genética.
- 45 • Diabetes gestacional: se produce cuando las mujeres embarazadas, que nunca han tenido diabetes anteriormente, tienen un nivel alto de glucosa en sangre durante el embarazo. Puede preceder al desarrollo de la DM de tipo 2.

50 Otras formas de diabetes mellitus incluyen la diabetes congénita, que se debe a defectos genéticos de la secreción de insulina, diabetes relacionada con la fibrosis quística, diabetes esteroidea inducida por altas dosis de glucocorticoides y varias formas de diabetes monogénicas.

55 La diabetes sin tratamientos adecuados puede causar muchas complicaciones. Las complicaciones agudas incluyen hipoglucemia, cetoacidosis diabética o coma hiperosmolar no cetónico. Las complicaciones graves a largo plazo incluyen enfermedades cardiovasculares, insuficiencia renal crónica y daño en la retina. Por lo tanto, el tratamiento adecuado de la diabetes es importante, así como el control de la presión arterial y los factores de estilo de vida tales como dejar de fumar y mantener un peso corporal saludable.

60 *Enfermedad de Behçet*

Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Behçet.

65

También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Behçet.

5 En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la enfermedad de Behçet que comprende administrar un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

10 La enfermedad de Behçet es una forma rara, sistémica, de vasculitis (o inflamación de los vasos sanguíneos) que a menudo se presenta con ulceración de las mucosas y afectación ocular (implicación de los ojos). La afectación ocular puede ser en forma de uveítis posterior, uveítis anterior o vasculitis retinal. Como enfermedad sistémica, también afecta a los órganos viscerales tales como el tracto gastrointestinal, y a los sistemas pulmonar, musculoesquelético y neurológico. Este síndrome puede ser fatal; se puede producir la muerte por la ruptura de los aneurismas vasculares o complicaciones neurológicas graves, y por lo tanto, requiere el tratamiento médico inmediato.

### 15 Trastornos neurodegenerativos

Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo.

20 También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo.

25 En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de un trastorno neurodegenerativo, que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

30 En particular, dicho trastorno neurodegenerativo tiene un componente neuroinflamatorio y se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington y esclerosis múltiple. Especialmente, dicho trastorno neurodegenerativo puede ser aquel en el que la IL-1 tenga un papel destacado.

35 El cerebro es una zona inmunológicamente privilegiada en condiciones normales. Los factores de supresión de la respuesta inmune incluyen neurotransmisores, neurohormonas, factores neurotróficos, factores antiinflamatorios y los contactos célula-célula a través de moléculas de adhesión o CD200. Sin embargo, ningún factor por sí solo puede explicar completamente el control inmune. El aumento de las respuestas inmunes cerebrales observado en las enfermedades neurodegenerativas probablemente refleja señales estimuladoras que anulan las señales supresoras. Sin embargo, la supresión de las respuestas inmunes no siempre es beneficiosa para las neuronas en condiciones degenerativas (Chang *et al.*, 2009). Por lo tanto, las intervenciones terapéuticas en enfermedades neurodegenerativas deberían ayudar a restablecer el control adecuado de las células inmunes/microglías en el SNC.

40 Las enfermedades neurodegenerativas son una causa creciente de discapacidad en los ancianos. La enfermedad de Alzheimer (EA) es la enfermedad neurodegenerativa más común. La incidencia anual de la EA en todo el mundo se estima en 4,6 millones de casos, con un nuevo caso cada 7 segundos. Para el año 2040, se esperan 80 millones de casos en todo el mundo (Massoud y Gauthier, 2010). La neurodegeneración; la progresión lenta de la disfunción con una pérdida de neuronas y conexiones axonales en el sistema nervioso central (SNC), es la característica patológica principal de trastornos neurológicos tales como la EA, enfermedad de Parkinson (EP) y la enfermedad de Huntington (EH) (Heneka *et al.*, 2010). En la EA, las principales características de la neuroinflamación incluyen la activación microglial en las regiones asociadas con la deposición de A $\beta$  (beta amiloide) y la expresión de una variedad de citocinas proinflamatorias tales como la IL1 $\beta$  y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). La proporción de la IL1 $\beta$  proinflamatoria con respecto a la IL10 antiinflamatoria aumenta notablemente en suero en pacientes con EA. La reacción inflamatoria local de la EA es mantenida por las microglías activadas y los astrocitos reactivos. La activación microglial puede ser bien neuroprotectora o perjudicial. En general, una respuesta neuroinflamatoria aguda es beneficiosa para el SNC, reduciendo al mínimo las lesiones adicionales y contribuyendo a la reparación del tejido dañado, mientras que la inflamación crónica es perjudicial y dañina para el sistema nervioso. Se sabe que el depósito progresivo de A $\beta$  en la EA es quimioatrayente para las microglías y, por lo tanto, podría proporcionar un estímulo crónico a las células microgliales. Recientemente, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, el ibuprofeno, ha demostrado tener un efecto protector en la EA (Heneka *et al.*, 2010; Krause y Müller, 2010).

60 La implicación del sistema de IL1 en la neurodegeneración se apoya en las siguientes líneas de evidencia. Su expresión se mejora espectacular y rápidamente tras cualquier tipo de lesión cerebral. Todas las enfermedades neurodegenerativas crónicas se ven acompañadas por un aumento de la expresión de IL1. Por otra parte, la neuroinflamación mediada por IL1 $\beta$  aumenta la susceptibilidad de las neuronas a la degeneración. Las células microgliales son la principal fuente de IL1 $\beta$  en la neuroinflamación, aunque también se induce su producción en los astrocitos. En los pacientes con EA, se ha encontrado la reducción de los niveles de IL1Ra. El bloqueo de la señalización de IL-1 mediante el aumento de las cantidades de IL1Ra tras las lesiones cerebrales da mejores resultados en muchos modelos experimentales de neurodegeneración. El IL1Ra proporciona neuroprotección de manera constante. El IL1Ra ha mostrado penetrar en el cerebro humano a concentraciones experimentalmente

terapéuticas, y se han diseñado ensayos clínicos para la introducción de IL1Ra como terapia posterior a la apoplejía (Cawthorne *et al.*, 2011; Clark *et al.*, 2008; Koprach *et al.*, 2008; Spulber *et al.*, 2009; Tarkowski *et al.*, 2001).

*Enfermedad de Alzheimer*

5 Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

10 También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer que comprende administrar un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

15 La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia. Muy a menudo, se diagnostica en personas mayores de 65 años, aunque el Alzheimer menos frecuente de aparición temprana puede producirse mucho antes. En 2006, había 26,6 millones de pacientes en todo el mundo. Se prevé que la enfermedad de Alzheimer afectará a 1 de cada 85 personas en el mundo en 2050.

20 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la pérdida de neuronas y la sinapsis en la corteza cerebral y ciertas regiones subcorticales. Esta pérdida produce una atrofia bruta de las regiones afectadas, incluyendo la degeneración del lóbulo temporal y del lóbulo parietal, y partes de la corteza frontal y el giro cingulado. Tanto las placas amiloides como los ovillos neurofibrilares se observan claramente mediante microscopía en los cerebros de las personas afectadas por EA. Las placas son depósitos densos, en su mayoría insolubles, del péptido beta-amiloide y material celular del exterior y alrededores de las neuronas. Los ovillos (ovillos neurofibrilares) son agregados de la proteína tau asociada a los microtúbulos que se ha hiperfosforilado y se ha acumulado dentro de las propias células.

*Enfermedad de Parkinson*

30 Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

35 También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la enfermedad de Parkinson que comprende administrar un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

40 La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno degenerativo del sistema nervioso central. Es el resultado de la muerte por causas desconocidas de las células que contienen dopamina de la sustancia negra, que es una región del cerebro medio. Pronto, en el curso de la enfermedad, los síntomas más evidentes están relacionados con el movimiento, incluyendo temblores, rigidez, lentitud de movimiento y dificultad para caminar. Más tarde, pueden surgir problemas cognitivos y de comportamiento, produciéndose comúnmente demencia en las etapas avanzadas de la enfermedad. La patología de la enfermedad se caracteriza por la acumulación de una proteína denominada alfa-sinucleína en inclusiones denominadas cuerpos de Lewy en las neuronas, y de la formación y actividad insuficientes de la dopamina producida en ciertas neuronas de las partes del cerebro medio.

50 Los tratamientos modernos son eficaces en el tratamiento de los síntomas motores iniciales de la enfermedad, principalmente a través del uso de levodopa y agonistas de la dopamina. A medida que la enfermedad progresa y las neuronas de dopamina se siguen perdiendo, finalmente llega un momento en el que estos fármacos se vuelven ineficaces en el tratamiento de los síntomas, produciendo, al mismo tiempo, una complicación denominada discinesia, caracterizada por movimientos de retorcimiento. Hay medicamentos para tratar otros síntomas de la EP. La dieta y algunas formas de rehabilitación han demostrado cierta eficacia en el alivio de los síntomas. Se han usado la cirugía y la estimulación cerebral profunda para reducir los síntomas motores como último recurso en los casos graves donde los fármacos no son eficaces.

*Enfermedad de Huntington*

60 Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Huntington.

También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Huntington.

65

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la enfermedad de Huntington que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

5 La enfermedad de Huntington, corea o trastorno (EH) es un trastorno genético neurodegenerativo que afecta a la coordinación muscular y conduce al deterioro cognitivo y a la demencia. La enfermedad está causada por una mutación autosómica dominante en cualquiera de las dos copias de un individuo de un gen denominado huntingtina. Los síntomas físicos de la enfermedad de Huntington pueden comenzar a cualquier edad desde la infancia hasta la vejez, pero, por lo general, comienzan entre los 35 y 44 años de edad. Aproximadamente el 6 % de los casos comienza antes de los 21 años con un síndrome acinéutico-rígido; avanzan más rápido y varían ligeramente. La variante se clasifica como variante de la EH juvenil, acinéutica-rígida o de Westphal.

15 Los síntomas de la enfermedad pueden variar entre los individuos e incluso los miembros de una misma familia, pero los síntomas progresan de manera predecible para la mayoría de los individuos. Los primeros síntomas son una falta general de coordinación y una marcha inestable. A medida que la enfermedad avanza, los movimientos corporales espasmódicos, descoordinados, se hacen más evidentes, junto con una reducción de la capacidad mental, y problemas de conducta y psiquiátricos. Las habilidades físicas se ven obstaculizadas gradualmente hasta que el movimiento coordinado se hace muy difícil, y la capacidad mental suele degenerar en demencia. Las complicaciones tales como la neumonía, enfermedades del corazón y daños físicos por caídas reducen la esperanza de vida a aproximadamente veinte años desde el comienzo de los síntomas. No hay cura para la EH y, en las últimas etapas de la enfermedad, se requiere atención a tiempo completo, pero hay tratamientos emergentes para aliviar algunos de sus síntomas.

#### *Esclerosis múltiple*

25 Es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para su uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple.

También es un aspecto proporcionar un péptido de acuerdo con la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

30 En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de la esclerosis múltiple que comprende la administración de un péptido de acuerdo con la presente divulgación a un individuo que lo necesita.

35 La esclerosis múltiple (EM, también conocida como esclerosis diseminada o encefalomiелitis diseminada) es una enfermedad inflamatoria en la que se dañan las vainas de mielina de grasa que hay en torno a los axones del cerebro y la médula espinal, dando lugar a la desmielinización y la cicatrización, así como un amplio espectro de signos y síntomas. El inicio de la enfermedad suele ocurrir en adultos jóvenes y es más común en las mujeres. Tiene una frecuencia que varía entre 2 y 150 por cada 100.000 personas.

40 La EM afecta a la capacidad de las células nerviosas del cerebro y la médula espinal para comunicarse entre sí. Las células nerviosas se comunican enviando señales eléctricas denominadas potenciales de acción por las fibras largas denominadas axones, que están envueltas en una sustancia aislante denominada mielina. En la EM, el propio sistema inmune del organismo ataca y daña la mielina. Cuando se pierde mielina, los axones ya no pueden conducir con eficacia las señales. La expresión "esclerosis múltiple" se refiere a cicatrices (esclerosis - más conocidas como placas o lesiones), particularmente en la sustancia blanca del cerebro y la médula espinal, que se compone principalmente de mielina.

50 Con la enfermedad, puede aparecer casi cualquier síntoma neurológico, y suele progresar en discapacidad física y cognitiva. La EM adopta varias formas, produciéndose nuevos síntomas bien en ataques diferenciados (formas recidivantes) o acumulándose lentamente a lo largo del tiempo (formas progresivas). Entre los ataques, los síntomas pueden desaparecer por completo, pero a menudo se producen problemas neurológicos permanentes, especialmente a medida que va avanzando la enfermedad.

55 No se conoce ninguna cura para la esclerosis múltiple. Los tratamientos intentan restablecer la función tras un ataque, prevenir nuevos ataques y prevenir la discapacidad. Los medicamentos para la EM pueden tener efectos adversos o ser mal tolerados, y muchos pacientes buscan tratamientos alternativos a pesar de la falta de estudios científicos que los apoyen. La esperanza de vida de los pacientes es de 5 a 10 años inferior a la de la población no afectada.

#### 60 **Secuencias**

*Secuencia de aminoácidos de la proteína antagonista del receptor de la interleucina-1 (de longitud completa; SEQ ID NO: 28);*

65 N.º de acceso de UniProt: P18510 (IL1RA\_HUMANO)  
Nombres abreviados: IL-1RN, IL1RN, IL-1ra, IRAP, IL1F3, IL1RA. Nombre/s alternativo/s: ICIL-1RA, inhibidor de IL1,

INN = Anakinra.

4 isoformas (1 secretada, 3 citoplasma).

5 Isoforma 1 (identificador: P18510-1), 177 aminoácidos de longitud, seleccionada como secuencia “canónica”:

MEICRGLRSHLITLLLFLFHSETICRPSGRKSSKMQAfriwDvNqKtFYLRnnQLVAGYLQGPnVNLEEKIDVVPIEPH  
ALFLGIHGGKMCLSCVKSGDETRLQLEAVNITDLSENrKQDKRFAFIRSDSGPTTSFESAACPGWFLCTAMEADQPV  
SLTNMPDEGVMVTKFYFQ EDE (SEQ ID NO:28)

10

Aparece subrayada la secuencia de llantafin-8/llantafin (SEQ ID NO: 1).

Isoforma 2 (identificador: P18510-2), 159 aminoácidos de longitud (también conocida como; iclL-1ra).

La secuencia de esta isoforma difiere de la secuencia canónica en lo siguiente: aa 1-21:

15

MEICRGLRSHLITLLLFLFHS → MAL.

Isoforma 3 (identificador: P18510-3), 180 aminoácidos de longitud (también conocida como; iclL-1ra de tipo II).

La secuencia de esta isoforma difiere de la secuencia canónica en lo siguiente: aa 1-21:

MEICRGLRSHLITLLLFLFHS → MALADLYEEGGGGGGEGEDNADSK.

20

Isoforma 4 (identificador: P18510-4), 143 aminoácidos de longitud.

La secuencia de esta isoforma difiere de la secuencia canónica en lo siguiente:

aa 1-34: faltan (eliminados).

25 *Secuencias de llantafin adicionales (fragmentos de IL1RA)*

llantafin-1: RIWDVNQKT (SEQ ID NO: 29)

llantafin-2: AGYLQGPnVN (SEQ ID NO: 30) - hidrosoluble, no soluble en PBS o en el medio

llantafin-3: NQLVAGYLQGPnVN (SEQ ID NO: 31) - no hidrosoluble

30

llantafin-4: VTKFYFQED (SEQ ID NO: 32) - no hidrosoluble

llantafin-5: EGVMVTKFYFQED (SEQ ID NO: 33) - completamente insoluble cuando se produce

llantafin-6: NQKTFYLRnnQL (SEQ ID NO: 34) - hidrosoluble, no soluble en PBS o en el medio

llantafin-7: TAMEADQPVS (SEQ ID NO: 35)

llantafin-8: es llantafin, SEQ ID NO: 1

35

llantafin-9: GPNAKLEEKA (SEQ ID NO: 36).

## Ejemplos

### Ejemplo 1

40

Localización del motivo de secuencia de la llantafin (llantide) (SEQ ID NO: 1) en la estructura cristalina del complejo de IL1Ra humano e IL1RI humano (Figura 1).

Método: se realizó la cartografía de la ubicación del péptido empleando el software PyMOL™, basado en PyMOL v0.99 (DeLano Scientific LLC, South San Francisco, California, EE.UU.). Esto se realizó basándose en la estructura cristalina del complejo del ILRa humano e IL1 RI humano, PDB ID: 1IRA (Schreuder *et al.*, 1997).

45

### Ejemplo 2

50 El péptido llantafin (SEQ ID NO: 1) interactúa con el ectodominio inmovilizado de IL1RI con una afinidad que está dentro del mismo orden de magnitud que las afinidades de unión de IL1β e IL1Ra a IL1RI (Figuras 2 y 3). Además, el péptido compite con el receptor para la unión de IL1β (Figura 3).

Método: se realizó el análisis de unión usando un Instrumento BiaCore 2000 (Biacore AB, Uppsala, Suecia) a 25 °C usando fosfato de sodio 10 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM como tampón de procesamiento. El caudal fue de 5 µl/min. Los datos se analizaron mediante el ajuste de curva no lineal usando el software del fabricante. Se inmovilizó la proteína recombinante que comprendía toda la parte extracelular de IL1RI sobre la superficie de un chip sensor CM5 por medio de interacciones electrostáticas, y se inyectaron el péptido y las proteínas IL1β e ILRa a diversas concentraciones. Para el análisis, se usaron las curvas correspondientes a la diferencia entre la unión a péptidos y un chip en blanco. En la Figura 4, se inmovilizó la proteína IL1β sobre un chip sensor, y se inyectaron el péptido llantafin a varias concentraciones y el receptor soluble (SIL1RI) a una concentración de 0,12 µM.

60

### Ejemplo 3

El péptido llantafin de SEQ ID NO: 1 (creado como un dendrímero/tetrámero y en una forma monomérica) inhibe la activación de los macrófagos, que está inducida por el tratamiento con IL1 $\beta$  (Figura 5, Figura 6 y Figura 7). El efecto de la llantafin es específico de la secuencia, ya que varias formas de una secuencia revuelta de llantafin, y llantafin con la secuencia inversa, no inhiben la activación de NF- $\kappa$ B por IL1 $\beta$  (Figura 8). El efecto de llantafin es específico de la secuencia, ya que el péptido no inhibe la señalización inducida por IL6 (Figura 9).

**Método:** Ensayo de señalización de IL1RI: se usó la tecnología de células indicadoras de citocinas Blue™ de InvivoGen disponible en el mercado (distribuidor de Dinamarca: Sigma-Aldrich). Está representada por una familia en expansión de líneas de células diseñadas por ingeniería genética para proporcionar un método simple, rápido y fiable de monitorización de la activación de las vías de señalización inducidas por citocinas clave. Las células IL1 $\beta$  HEK-Blue™ se han diseñado específicamente para responder de manera selectiva a IL1 $\beta$ , y cuentan con el gen indicador de la fosfatasa alcalina embrionaria secretada (SEAP), bajo el control de un promotor inducible de NF- $\kappa$ B. Se determinó el efecto inhibitorio del péptido llantafin a varias concentraciones sobre la activación de NF- $\kappa$ B inducida por IL1 $\beta$  (1,2 pM, y se comparó con los datos obtenidos con IL1Ra e IL1RI comerciales. Se verificó una especificidad por la diana/el receptor del efecto de llantafin empleando células IL6 HEK-Blue™.

### Ejemplo 4

El péptido llantafin (SEQ ID NO: 1), tanto como un dendrímero/tetrámero o como un monómero, de una manera dependiente de la dosis, inhibe la activación de los macrófagos inducida por IL1 $\beta$  como se refleja por la secreción de TNF- $\alpha$  (Figura 10, Figura 11). Las proteínas IL1Ra y SIL1RI también inhiben la activación de los macrófagos (controles positivos, Figura 12).

**Método:** se añadió péptido llantafin, o IL1Ra o IL1RI a cultivos de macrófagos (AMJ2-C8) sembrados en múltiples placas de 6 pocillos (Nunc) ( $2,5 \times 10^5$  células/pocillo). Tras 24 h de incubación a 37 °C, se añadió IL1 $\beta$  (1,2 pM) a los cultivos para activar los macrófagos. Se sembraron células L929 en una placa de 96 pocillos a una densidad de  $2 \times 10^5$  células/ml. Se incubaron ambos cultivos de células durante 24 horas a 37 °C. Se recogió medio acondicionado de los cultivos de macrófagos y se añade a los cultivos de fibroblastos, junto con 0,6  $\mu$ g/pocillo de actinomicina D (Sigma-Aldrich). Finalmente, tras 24 h de incubación a 37 °C, se añadieron 20  $\mu$ l de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS) (Promega, Madison, WI, EE.UU.) a cada pocillo y se incubaron las placas protegidas de la luz, a 37 °C durante ~45 min, y se midió la densidad óptica a 490 nm en un lector de absorbancia Sunrise (Tecan, Männedorf, Suiza). Para calcular la cantidad de TNF- $\alpha$  en el medio condicionado, se obtuvo una curva patrón mediante el tratamiento de los fibroblastos con diferentes concentraciones de TNF- $\alpha$  (R & D Systems, Minneapolis, MN, EE.UU.).

### Ejemplo 5

El péptido llantafin (SEQ ID NO: 1), las proteínas IL1Ra y SIL1RI inducen la excrecencia de las neuritas en las neuronas primarias del cerebelo de una manera dependiente de la dosis, mientras que IL1 $\beta$  por sí sola no afecta a la neurogénesis. Por otra parte, IL1 $\beta$  inhibe la excrecencia de las neuritas inducida por llantafin e IL1Ra. Indica que la inhibición de la activación de IL1RI potencia la diferenciación neuronal (Figura 13 y la Figura 19 (los mismos datos recalculados), Figura 14).

**Método:** se prepararon neuronas granulares del cerebelo (CGN) de ratas Wistar de 3 o 7 días de vida (Charles River, Sulzfeld, Alemania o Taconic, Ejby, Dinamarca). Se limpiaron los cerebelos de meninges y vasos sanguíneos, se homogenizaron más o menos mediante troceado y se tripsinizaron con tripsina de Sigma-Aldrich (Brønby, Dinamarca). Se lavaron las neuronas en presencia de ADNasa 1 e inhibidor de tripsina de soja (Sigma-Aldrich), y se sedimentaron los restos celulares por centrifugación antes de la siembra. Se sembraron CGC a una densidad de 10.000 células/pocillo sobre portaobjetos de cámara Lab-Tek de ocho pocillos sin recubrir (NUNC, Slangerup, Dinamarca) en medio Neurobasal-A complementado con BSA al 0,4 % (p/v). Se añadieron péptidos o proteínas a varias concentraciones al medio inmediatamente después de la siembra, y se mantuvieron las células a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % durante 24 h. A continuación, se fijaron los cultivos, se bloquearon y se incubaron con anticuerpo policlonal de conejo anti-GAP-43 de rata (Chemicon, Temecula, CA, EE.UU.), seguido de la incubación con el anticuerpo secundario anti-conejo de cabra Alexa Fluor488 (Molecular Probes, Eugene, OR, EE.UU.) según lo descrito anteriormente (Neiendam *et al.*, 2004). Todos los cultivos inmunoteñidos se registraron por microscopía de fluorescencia asistida por ordenador usando un microscopio invertido Nikon Diaphot (Nikon, Japón) dotado de un objetivo Nikon Plane de 20 aumentos. Las imágenes se capturaron con una cámara de vídeo de dispositivo de carga acoplado (Grundig Electronics, Nurnberg, Alemania), usando el paquete de software Prima desarrollado en el Laboratorio de Proteínas (Universidad de Copenhague, Copenhague, Dinamarca). La duración de los procesos neuronales por célula se estimó usando el paquete de software Process Length desarrollado en el Laboratorio de Proteínas (Ronn *et al.* 2000). Para la estimación de la excrecencia de las neuritas, se procesaron al menos 200  $\pm$  20 células por cada grupo en cada experimento individual.

**Ejemplo 6**

El péptido llantafin (SEQ ID NO: 1) reduce la muerte celular de las neuronas (apoptosis), que se induce por la reducción de las concentraciones de cloruro de potasio. El efecto del péptido es comparable al efecto del factor de supervivencia neuronal IGF-1 (Figura 15 y Figura 20).

**Método:** Ensayo de supervivencia: se sembraron cultivos primarios de CGN a una densidad de 100.000 células/cm<sup>2</sup> en portaobjetos permanox de 8 pocillos recubiertos de poli-L-lisina en Neurobasal-A (Gibco BRL) complementado con B27 al 2 % (v/v), glutamax al 0,5 % (v/v), 100 unidades/ml de penicilina, 100 Ig/ml de estreptomycin y KCl, produciendo la concentración final de KCl en el medio de 40 mM. 24 horas después de la siembra, se añade citosina-b-D-arabinofuranósido (Ara-C; Sigma-Aldrich) a una concentración final de 10 µM para evitar la proliferación de las células gliales, tras lo que se dejó que se diferenciaron las neuronas durante 6 días a 37 °C. Se indujo la muerte celular apoptótica lavando dos veces y cambiando el medio a medio basal de Eagle (BME; Gibco BRL) complementado con glutamina al 1 % (v/v), 100 U/ml de penicilina y 100 Ig/ml de estreptomycin, 3,5 g de D-glucosa/L y piruvato de sodio al 1 % (v/v) (Gibco BRL) junto con diversas concentraciones de péptido. De este modo, se redujo la concentración de potasio en los cultivos a KCl 5 mM (Ditlevsen *et al.*, 2003). Dos días después de la inducción de la apoptosis, se fijaron las células con formaldehído al 4 % (v/v) y se tiñeron con Hoechst 33258 como se describe para el ensayo de supervivencia empleando neuronas del hipocampo.

**Ejemplo 7**

El péptido llantafin (SEQ ID NO: 1) suprime un aumento de las manifestaciones clínicas de la AIC en ratas (Figura 16).

**Método:** la artritis reumatoide es una enfermedad inmunitaria crónica, inflamatoria, sistémica que afecta aproximadamente al 1 % de la población general de los países occidentales. La artritis inducida por colágeno (AIC) en ratas es un modelo animal ampliamente empleado para la selección de compuestos antiinflamatorios. Colágeno bovino de tipo II (CII, n.º de cat. 20021, Lote 090209, Chondrex, EE.UU.), Adyuvante Completo de Freund, que contiene *Mycobacterium tuberculosis* al 0,1 % (CFA, n.º de cat. F5581, Lote 049K8700, Sigma-Aldrich), adyuvante incompleto de Freund (IFA, n.º de cat. F5506, Lote 058K8702, Sigma). PBS (Instituto Panum, Universidad de Copenhague). Isoflurano (Baxter). Los animales se inmunizaron dos veces: el día 0 (CII + CFA) y el día 10 (CII + IFA, refuerzo). El día 15, la puntuación clínica media alcanzó un valor de 5,0, y todos los animales se dividieron en 3 grupos, de modo que la gravedad de la enfermedad (puntuación clínica media) en todos los grupos era casi la misma. Se administró el péptido (dos dosis, 3,3 y 10 mg/kg) por vía subcutánea diariamente comenzando el día 15. La evaluación clínica de la gravedad de la artritis se evaluó mediante el siguiente sistema de clasificación: 0 - sin enrojecimiento o hinchazón en las patas ni en las palmas; 1 - ligero hinchazón o enrojecimiento en la articulación metatarsofalángica y el tobillo en las patas o las palmas; 2 - hinchazón/inflamación y enrojecimiento avanzados desde el tobillo a mitad de la pata o en toda la palma; 3 - hinchazón/inflamación de toda la pata a excepción de los dedos de las patas; 4 - hinchazón e inflamación de toda la pata, incluyendo los dedos.

**Ejemplo 8**

Detección de péptidos llantafin (tales como SEQ ID NO: 1) en plasma y líquido cefalorraquídeo.

Se recogen muestras de sangre del plexo orbital de ratas Wistar de 200 g anestesiadas a los 15 min, 30 min, 1, 2, 4, 8 y 24 h de una sola administración subcutánea de llantafin (SEQ ID NO: 1) (10 mg/kg) como se describe en Secher *et al.* (2006). Se muestrea líquido cefalorraquídeo de la cisterna magna a las 2 h, como se ha descrito previamente (Secher *et al.*, 2006). Se midieron las concentraciones de llantafin de las muestras de plasma usando un ensayo de inmunoabsorción competitiva ligado a enzima. Se recubren placas de noventa y seis pocillos Amino<sup>TM</sup> (Nunc) con 30 mg/ml de albúmina biotilada (Sigma-Aldrich) diluida en tampón de carbonato 100 mM (pH 9,6). Se incuban las placas durante 2 h y se lavan tres veces con Tween 20 al 0,05 % v/v en solución salina tamponada con fosfato (PBST). Se mezcla un volumen de muestra con tres volúmenes de estreptavidina marcada con peroxidasa diluida A 1:5.000 en PBST y se incuba durante 30 min. A continuación, se añade una cantidad de 100 ml/pocillo de la mezcla a las placas recubiertas de albúmina biotilada. Se incuban las placas durante 1 h, se lavan tres veces con PBST y se revelan con TMB plus (Kem-En-Tec, Taastrup, Dinamarca). La reacción enzimática se detiene con ácido sulfúrico 0,2 M. Se registra la densidad óptica a 450 nm usando un lector de absorbancia Sunrise (Tecan, Männedorf, Suiza). Todas las muestras se procesan preferentemente por duplicado.

Para investigar si SEQ ID NO: 1 penetra en la barrera hematoencefálica de las ratas, se detecta llantafin con biotina en el plasma y el LCR tras la administración subcutánea. Si el péptido está presente tanto en el plasma como en el LCR, esto sugiere que la llantafin administrada sistémicamente atraviesa la barrera cefalorraquídea.

**Ejemplo 9**

El efecto de los péptidos llantafin, tales como SEQ ID NO: 1, en la reversión de la citotoxicidad neuronal se puede evaluar mediante el siguiente método: "citotoxicidad inducida por el ácido kaínico"

Se siembran neuronas del hipocampo en placas a una densidad de  $5 \times 10^4$  células por pocillo en portaobjetos Permanox LabTek de ocho pocillos recubiertos con poli-L-lisina (Nunc) como se ha descrito previamente (Soroka *et al.*, 2002). Tras 7 días en cultivo, se tratan las neuronas con llantafin (0,001 a 3 mM) o IL1RA de longitud completa durante 1 h seguido de la adición de ácido kaínico 300 mM (Sigma, Brøndby, Dinamarca) recién reconstituido. Las células se cultivan además durante 24 h. Se fijan las células en formaldehído al 4 % v/v y se tiñen con 5 mg/ml de Hoechst 33258 (Invitrogen, Copenhagen, Dinamarca) o 5 mg/ml de yoduro de propidio (Sigma). Se registran al menos 1.000 células/condición en una serie sistemática de campos de visión, con la posición del primer campo seleccionada al azar según lo descrito en Ronn *et al.*, (2000). Se estima la viabilidad celular basándose en la morfología nuclear (las células muertas muestran cromatina condensada o núcleos fragmentados) en un modo semiautomático usando el software desarrollado en el laboratorio para reducir al mínimo el sesgo. Los resultados se presentan como la media de la proporción de células vivas [ $n$  células vivas/( $n$  células vivas + células muertas)  $\pm$  ETM].

#### Ejemplo 10

El efecto de los péptidos llantafin, tales como SEQ ID NO: 1, en la atenuación de las convulsiones, la reducción de la mortalidad y la reducción de la neurodegeneración se puede evaluar mediante el siguiente método: "Convulsiones inducidas por ácido kaínico".

Se administra a ratones C57BL/6J macho, de 28 a 32 g, mediante inyección por vía subcutánea, llantafin (10 mg/kg), IL1RA de longitud completa o vehículo 48, 24 y 2 h antes del tratamiento con ácido kaínico. Basándose en experimentos preliminares de ajuste de la dosis, se seleccionan dos dosis de ácido kaínico (intraperitoneal) para realizar dos series de experimentos para inducir bien convulsiones de bajo grado (ácido kaínico a 20 mg/kg) o convulsiones de alto grado y mortalidad (ácido kaínico a 30 mg/kg). Los parámetros medidos incluían la latencia del inicio de las convulsiones, la gravedad de las convulsiones y la mortalidad. Se registra la actividad convulsiva durante 2 horas tras la administración de ácido kaínico por un observador con ocultación del tratamiento, y se evalúa de acuerdo con una escala modificada de Racine (0 = inmovilidad; 1 = automatismo facial; 2 = cabeceo; 3 = clono de extremidades anteriores; 4 = levantamiento de extremidades anteriores; 5 = convulsiones generalizadas; 6 = muerte, Racine, 1972). Los grados de las convulsiones 1 a 3 se consideran convulsiones de bajo grado, y los grados de convulsiones 4 a 5 se consideran convulsiones de alto grado. La latencia de la inmovilidad se mide como el tiempo entre la inyección de ácido kaínico y la aparición de la inmovilidad. El grupo de control de animales recibió una inyección de vehículo.

#### Ejemplo 11

Se sintetizaron péptidos usando la estrategia de protección con Fmoc en resina TentaGel (Rapp Polymere, Tübingen, Alemania), usando aminoácidos protegidos con Fmoc (Calbiochem-Novabiochem). Los dendrímeros se componían de cuatro monómeros acoplados a una cadena principal de lisina. Los dímeros se componían de dos monómeros acoplados a un resto de lisina. Los péptidos tenían una pureza de al menos el 95 % estimada mediante cromatografía de líquidos de alta resolución y espectroscopia de masas de desorción/ionización mediante láser asistida por matriz, acoplada a un analizador de tiempo de vuelo (VG TOF Spec E, Fisons Instruments, Beverly, MA).

#### Ejemplo 12

Solubilidad de los péptidos

Tras la recepción de los péptidos de la empresa de síntesis (en forma de polvo), se reconstituyeron en agua, en PBS o en medio. Por lo tanto, es inmediatamente evidente si un péptido es soluble o no.

#### Ejemplo 13

Estabilidad de los péptidos

Un método de evaluación de la estabilidad de los péptidos es aquel en el que la cantidad de péptidos en solución se mide espectrofotométricamente o por MS (espectrometría de masas; que mide la proporción de la masa con respecto a la carga de las partículas cargadas) en función del tiempo (1, 2, 3 días, etc.) cuando se mantiene el péptido en solución a 4 °C y a temperatura ambiente.

#### Ejemplo 14

Efecto de llantafin SEQ ID NO: 1 (SGRKSSKMQA) en un modelo de rata de artritis inducida por colágeno (AIC).

Método:

Artritis inducida por colágeno en ratas (AIC).

Inducción de la AIC. El estudio de la AIC se realizó en un total de 40 ratas Wistar macho con un peso medio de

150 g al comienzo del experimento. Se indujo la AIC mediante inyección subcutánea (s.c.) de colágeno bovino de tipo II (CII, Sigma-Aldrich) disuelto en ácido acético 0,05 M (2 mg/ml), y luego se emulsionó 1:1 con CFA (Sigma-Aldrich), que contenía 1,0 mg/ml de *M. tuberculosis* inactivado por calor. Bajo anestesia por inhalación (isoflurano, 3 %), se inyectaron 250 µl de la emulsión que contenían 250 µg de CII y 125 µg de *M. tuberculosis* (s.c.) en la base de la cola (día posterior a la inmunización, dpi 0).

Diseño del tratamiento. El dpi 8, antes de la aparición de los signos clínicos, se dividieron al azar todos los animales en dos grupos, 20 ratas por grupo, y se recibieron diariamente durante 8 días (dpi 8-15) llantafin (10,0 mg/kg, s.c.) o vehículo (PBS, 1,0 ml/kg, s.c.). La evaluación clínica se llevó a cabo los dpi 7 a 16, y se continuó en el período sin tratamiento en los dpi 29 a 33.

Puntuaciones clínicas. Un observador con ocultación de los grupos de tratamiento evaluó la gravedad de la artritis empleando el siguiente sistema de clasificación: 0 - sin enrojecimiento o hinchazón en las patas; 1 - ligero enrojecimiento en las patas, o enrojecimiento o hinchazón en las articulaciones interfalángicas individuales; 2 - inflamación y enrojecimiento moderados en el tobillo y el metatarso de la pata; 3 - hinchazón y enrojecimiento notables en toda la pata, uso restringido de la pata en la locomoción; 4 - hinchazón y enrojecimiento notables de toda la pata, imposibilidad de uso de la pata en la locomoción y elevación de los miembros anteriores. Dado que la AIC normalmente solo afecta a los miembros posteriores, el índice artrítico de una rata se definió como la suma de las puntuaciones de las 2 extremidades. Los animales fueron sacrificados cuando la gravedad de la artritis alcanzó la puntuación 7.

Se realizó un análisis estadístico empleando ANOVA de dos vías y la prueba t.

Resultados:

El péptido llantafin reduce la morbilidad de los animales con AIC, véase la Figura 17. La morbilidad se expresó como un porcentaje de los animales que alcanzaron el índice clínico 7 y, por lo tanto, se sacrificaron el día del ensayo. Llantafin redujo significativamente la morbilidad en el dpi 12. \* -  $P < 0,05$  (prueba t no apareada con corrección de Welch).

Por otra parte, llantafin atenúa la gravedad de la AIC (evaluación clínica), véase la Figura 18. El ANOVA de dos vías reveló un efecto significativo del tratamiento sobre la puntuación clínica de los animales con AIC [ $F(1, 238) = 18,05$ ,  $P < 0,0001$ ]. El péptido llantafin atenúa la gravedad de la AIC en los dpi 13 a 15. \* -  $P < 0,05$  (prueba t no apareada con corrección de Welch).

Referencias

- Cawthorne C., Prenant C., Smigova A., Julyan P., Maroy R., Herholz K., Rothwell N., Boutin H. (2011) "Biodistribution, pharmacokinetics and metabolism of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1 RA) using [ $^{18}$ F]-IL1RA and PET imaging in rats". *Br J Pharmacol* 162:659-672.
- Chang R. C., Chiu K., Ho Y. S., So K. F. (2009) "Modulation of neuroimmune responses on glia in the central nervous system: implication in therapeutic intervention against neuroinflammation". *Cell Mol Immunol* 6:317-326.
- Clark S. R., McMahon C. J., Gueorguieva I., Rowland M., Scarth S., Georgiou R., Tyrrell P. J., Hopkins S. J., Rothwell N. J. (2008) "Interleukin-1 receptor antagonist penetrates human brain at experimentally therapeutic concentrations". *J Cereb Blood Flow Metab* 28:387-394.
- Dinarello C. A. (1996) "Biologic basis for interleukin-1 in disease". *Blood* 87:2095-2147.
- Ditlevsen D. K., Kohler L. B., Pedersen M. V., Rissel M., Kolkova K., Meyer M., Berezin V. y Bock E. "The role of phosphatidylinositol 3-kinase in neural cell adhesion molecule-mediated neuronal differentiation and survival". *J Neurochem*. 2003, 84:546-556.
- Hallegua D. S., Weisman M. H. (2002) "Potential therapeutic uses of interleukin 1 receptor antagonists in human diseases". *Ann Rheum Dis* 61:960-967.
- Heneka M. T., O'Banion M. K., Terwel D., Kummer M. P. (2010) "Neuroinflammatory processes in Alzheimer's disease". *J Neural Transm* 117:919-947.
- Koprach J. B., Reske-Nielsen C., Mithal P., Isacson O. (2008) "Neuroinflammation mediated by IL-13 increases susceptibility of dopamine neurons to degeneration in an animal model of Parkinson's disease". *J Neuroinflammation* 5:8.
- Krause D. L., Müller N. (2010) "Neuroinflammation, microglia and implications for antiinflammatory treatment in Alzheimer's disease". *Int J Alzheimers Dis* pii: 732806.
- Massoud F., Gauthier S. (2010) "Update on the pharmacological treatment of Alzheimer's disease". *Curr Neuropharmacol* 8:69-80.
- Neiiendam J. L., Kohler L. B., Christensen C., Li S., Pedersen M. V., Ditlevsen D. K., Kornum M. K., Kiselyov V. V., Berezin V. y Bock E. "An NCAM-derived FGF-receptor agonist, the FGF-peptide, induces neurite outgrowth and neuronal survival in primary rat neurons". *J Neurochem*. 2004, 91:920-935.
- Ronn L. C., Ralets I., Hartz B., Beck M., Berezin A., Berezin V., Moller A. y Bock E. "A simple procedure for quantification of neurite outgrowth based on stereological principles". *J Neurosci. Meth*. 2000, 100:25-32.
- Schreuder H., Tardif C., Trump-Kallmeyer S., Soffientini A., Sarubbi E., Akesson A., Bowlin T., Yanofsky S., Barrett

R. W. (1997) "A new cytokine-receptor binding mode revealed by the crystal structure of the IL-1 receptor with an antagonist". *Nature* 386:194-200.

Secher T., Novitskaia V., Berezin V., Bock E., Glenthoj B., Klementiev B. "A neural cell adhesion molecule-derived fibroblast growth factor receptor agonist, the FGL- 10 peptide, promotes early postnatal sensorimotor development and enhances social memory retention". *Neuroscience* 2006; 141: 1289-99.

Spulber S. Bartfai T., Schultzberg M. (2009) "IL-1/IL-1ra balance in the brain revisited: evidence from transgenic mouse models". *Brain Behav Immun* 23:573-579.

Soroka V., Kiryushko D., Novitskaya V., Ronn L. C., Poulsen F. M., Holm A., *et al.* "Induction of neuronal differentiation by a peptide corresponding to the homophilic binding site of the second Ig module of the neural cell adhesion molecule". *J Biol Chem* 2002; 277: 24676-83.

Tarkowski E., Liljeroth A. M., Nilsson A., Minthon L., Blennow K. (2001) "Decreased levels of intrathecal interleukin 1 receptor antagonist in Alzheimer's disease". *Dement Geriatr Cogn Disord* 12:314-317.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> University of Copenhagen
- <120> Nuevos antagonistas del receptor de la interleucina-1
- 20 <130> P2572PC00
- <150> PA 2011 70120
- <151> 14-03-2011
- 25 <160> 38
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- 30 <211> 10
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 1
- 35 Ser Gly Arg Lys Ser Ser Lys Met Gln Ala  
1 5 10
- <210> 2
- 40 <211> 10
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 2
- 45 Ser Gly Arg Lys Pro Ser Lys Met Gln Ala  
1 5 10
- <210> 3
- 50 <211> 8
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 3
- 55 Ser Ala Arg Lys Ser Glu Lys Met  
1 5
- <210> 4
- 60 <211> 8
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 4

Arg Lys Ala Ser Lys Leu Gln Ala  
 1 5

5  
 <210> 5  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10  
 <400> 5

Ser Ala Arg Lys Ser Glu Lys Met  
 1 5

15  
 <210> 6  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 6

20  
 Ser Gly Arg Gln Ser Pro Lys Met  
 1 5

25  
 <210> 7  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 7

30  
 Ser Gly Arg Lys Ser Pro His Ser Lys Leu Pro Ala  
 1 5 10

35  
 <210> 8  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 8

40  
 Ser Ser Arg Gln Ser Ser Lys Met  
 1 5

<210> 9  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 9

45  
 Ser Gly Lys Arg Pro Cys Lys Met Gln Ala  
 1 5 10

50  
 <210> 10  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 10

Arg Met Asn Ser Lys Met Gln  
 1 5

5 <210> 11  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 11

Lys Ser Pro Lys Met Gln  
 1 5

10 <210> 12  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 12

Arg Lys Gly Gly Lys Met Gln  
 1 5

20 <210> 13  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 25 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 13

Ser Gly Arg Gly Lys Ser Ser Ser Lys Met  
 1 5 10

30 <210> 14  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 14

Gly Arg Arg Ser Ser Arg Lys Met Pro Ala  
 1 5 10

40 <210> 15  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 45 <400> 15

Arg Lys Ala Asn Lys Leu Gln Ala  
 1 5

50 <210> 16  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 16

Ser Gly Arg Lys Ser His Arg Leu Gln  
 1 5

55

5 <210> 17  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 17

Arg Lys Ala Trp Lys Met Gln  
 1 5

10 <210> 18  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 18

Arg Lys Ala Asn Lys Leu Gln Ala  
 1 5

20 <210> 19  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 19

Gly Arg Arg Ser Ser Lys Thr Glu Ala  
 1 5

30 <210> 20  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 20

Arg Thr Ser Ser Arg Met Gln  
 1 5

40 <210> 21  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 21

Gly Arg Lys Arg Ser Arg Met His  
 1 5

45 <210> 22  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 22

Gly Arg Lys Arg Ser Lys Thr Gln  
 1 5

55

<210> 23  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5 <400> 23  
 Ser Gly Arg Lys Leu Ala Lys Leu Gln  
 1 5  
 10 <210> 24  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15 <400> 24  
 Arg Lys Ser Thr Glu Met Glu Ala  
 1 5  
 20 <210> 25  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 25  
 Arg Lys Gln Asn Lys Met Glu Ala  
 1 5  
 25 <210> 26  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30 <400> 26  
 Arg Arg Ser Ser Arg Leu Gln Ala  
 1 5  
 35 <210> 27  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 40 <400> 27  
 Arg Thr Ser Ser Arg Met Gln  
 1 5  
 45 <210> 28  
 <211> 177  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 50 <400> 28

ES 2 600 616 T3

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

Glu

5 <210> 29  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 29  
 Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr  
 1 5

15 <210> 30  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 30

Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn Val Asn  
 1 5 10

<210> 31  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 31

Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn Val Asn  
 1 5 10

10

<210> 32  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 32

Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp

1 5

20

<210> 33  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 33

Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp  
 1 5 10

30

<210> 34  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35

<400> 34

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

40

<210> 35  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

45

<400> 35

Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser  
 1 5 10

50

<210> 36  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 36

Gly Pro Asn Ala Lys Leu Glu Glu Lys Ala  
1 5 10

5 <210> 37  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 37

Arg Pro Ser Gly Arg Lys Ser Ser Lys Met Gln Ala Phe Arg Ile  
1 5 10 15

15 <210> 38  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 38

20 Leu Val Ala Gly Tyr  
1 5

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (SGRKSSKMQA); o una variante de SEQ ID NO: 1 que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, comprendiendo dicha variante una sustitución de aminoácido conservativa, siendo dicho péptido capaz de unirse al receptor de IL-1 de tipo 1 (IL1RI), y capaz de interferir en la unión de IL-1 beta a IL1RI.
- 10 2. Un péptido que consiste en SEQ ID NO: 1.
3. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 2.
- 15 4. Un compuesto multimérico que comprende dos o más péptidos, en el que cada uno de dichos dos o más péptidos consiste en un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dichos dos o más péptidos están enlazados a través de un enlace peptídico o un grupo enlazador.
- 20 6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicho grupo enlazador comprende uno o más restos de lisina.
7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en un dímero, un trímero, un tetrámero, un dendrímero que comprende 4 péptidos (un dendrímero tetramérico), un dendrímero que comprende 8 péptidos, un dendrímero que comprende 16 péptidos y un dendrímero que comprende 32 péptidos.
- 25 8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7, en el que dichos dos o más péptidos son idénticos entre sí, o en el que dichos dos o más péptidos no son idénticos entre sí.
- 30 9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dichos dos o dichos cuatro péptidos consisten en SEQ ID NO: 1.
10. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o un compuesto multimérico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, para su uso como un medicamento.
- 35 11. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o un compuesto multimérico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, para su uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio.
- 40 12. El péptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicha enfermedad inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en acné vulgar, asma, aterosclerosis, enfermedades inmunitarias, enfermedad de Behçet, inflamación crónica, prostatitis crónica, dermatitis, gota, glomerulonefritis, hipersensibilidades (incluyendo el tipo 1 (inmediata o atópica, o anafiláctica) que comprenden asma alérgica, conjuntivitis alérgica, rinitis alérgica (fiebre del heno), anafilaxia, angioedema, urticaria (ronchas), eosinofilia y la respuesta a la penicilina y la cefalosporina; de tipo 2 (dependiente de anticuerpos), que comprenden anemia hemolítica autoinmune, síndrome de Goodpasture, hepatitis, SII (síndrome del intestino irritable), artritis idiopática juvenil (AIJ), pénfigo, anemia perniciosa (si es autoinmune), soriasis, artritis soriásica, trombocitopenia inmune, reacciones de transfusión, tiroiditis de Hashimoto, cistitis intersticial, enfermedad de Graves, miastenia gravis, fiebre reumática, enfermedad hemolítica del recién nacido y rechazo agudo de trasplante; de tipo 3 (complejo inmune) que comprenden artritis reumatoide, glomerulonefritis compleja inmune, enfermedad del suero, endocarditis bacteriana, subaguda, síntomas de la malaria, lupus eritematoso sistémico (LES), reacción de Arthus, pulmón de granjero y poliarteritis nodosa; de tipo 4 (hipersensibilidad mediada por células o de tipo retardado DTH) que comprenden dermatitis de contacto, dermatitis atópica (eczema), arteritis temporal, sarcoidosis, síntomas de la lepra, síntomas de la tuberculosis, esclerosis sistémica, test de Mantoux, enfermedad celíaca y rechazo crónico de trasplante), enfermedades inflamatorias intestinales (incluyendo enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colágena, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis de desviación, síndrome de Behçet, colitis infecciosa y colitis indeterminada), miopatías (incluyendo dermatomiositis, polimiositis y miositis por cuerpos de inclusión), enfermedad inflamatoria pélvica, Podagra, lesión por reperfundición, artritis reumatoide, rechazo de trasplantes y vasculitis.
- 45 50 55 60 13. El péptido para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, en el que dicha enfermedad inflamatoria es diabetes mellitus, incluyendo la diabetes mellitus de tipo I y la diabetes mellitus de tipo II.
14. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o un compuesto multimérico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, para su uso en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo.
- 65 15. El péptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que dicho trastorno neurodegenerativo se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de

Huntington y esclerosis múltiple.

Figura 1



Figura 2A

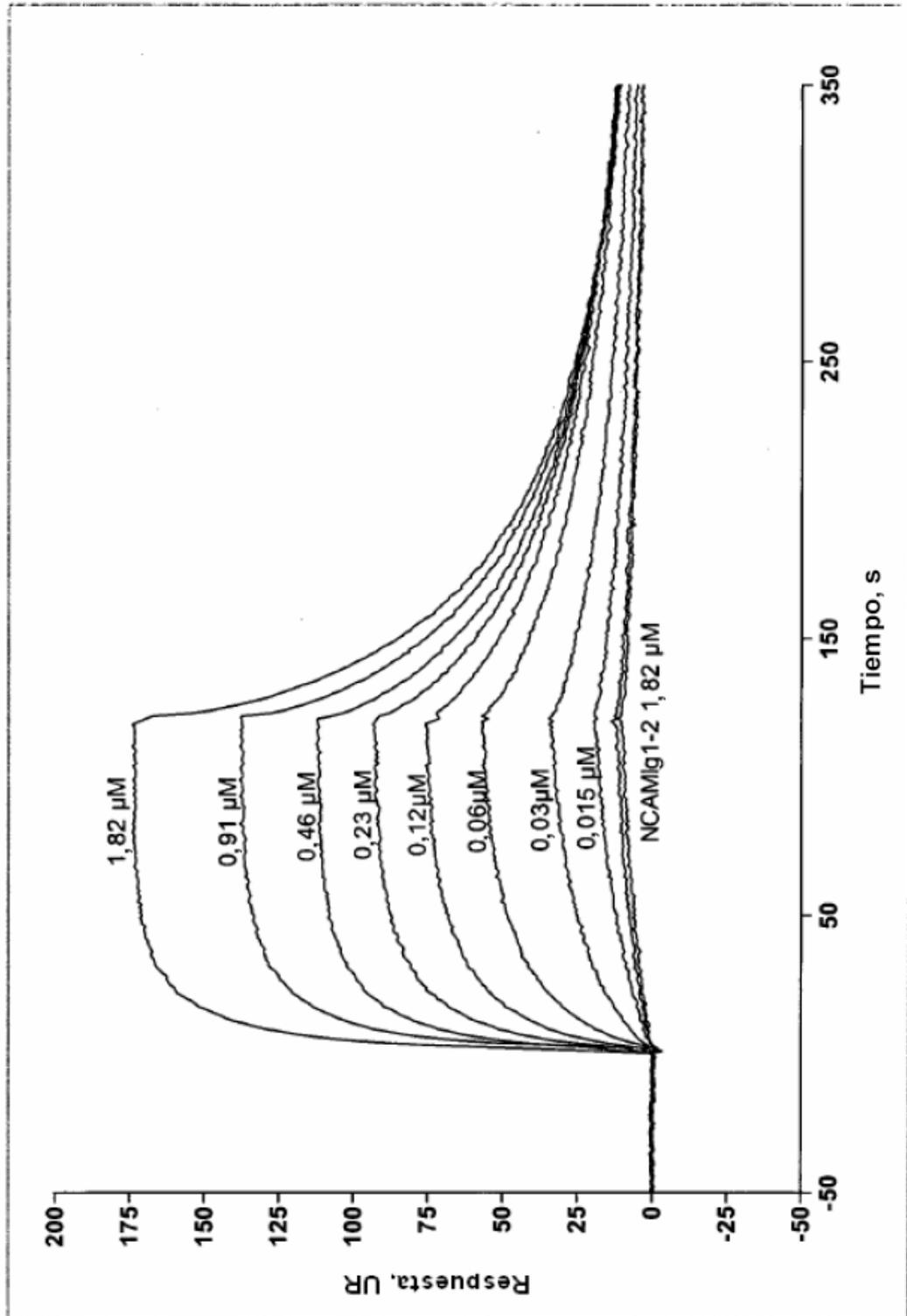


Figura 2B

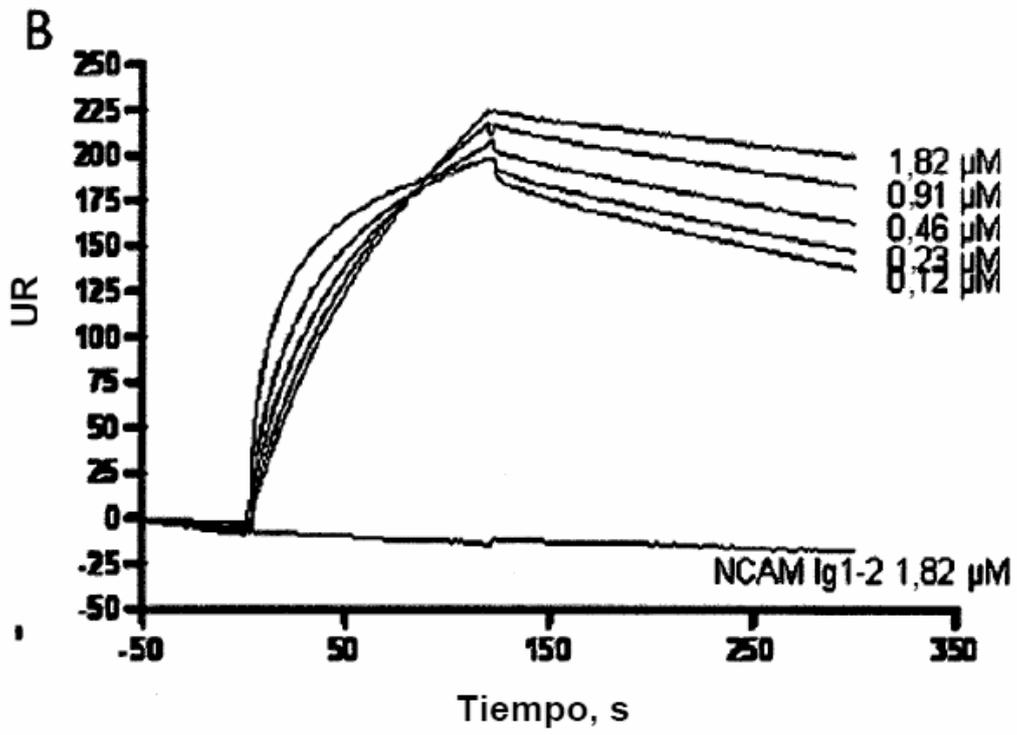


Figura 2C

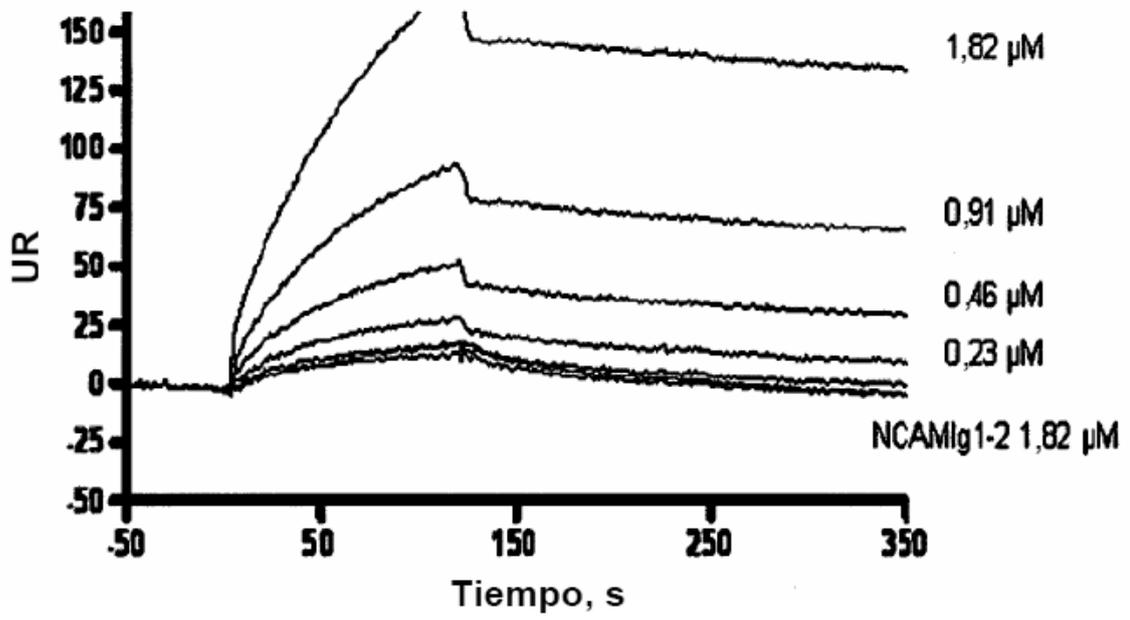


Figura 3

Ligando	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_b$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ (M)
Ilantafin	$8,56 \pm 2,79 \times 10^3$	$7,53 \pm 2,03 \times 10^{-4}$	$1,71 \times 10^{-7} \pm 7,07 \times 10^{-9}$
ILRa	$5,47 \pm 5,53 \times 10^5$	$3,62 \pm 0,65 \times 10^{-3}$	$4,80 \times 10^{-8} \pm 1,32 \times 10^{-8}$
IL1 $\beta$	$1,84 \pm 0,20 \times 10^5$	$2,69 \pm 0,58 \times 10^{-3}$	$2,75 \times 10^{-8} \pm 7,86 \times 10^{-9}$

Figura 4

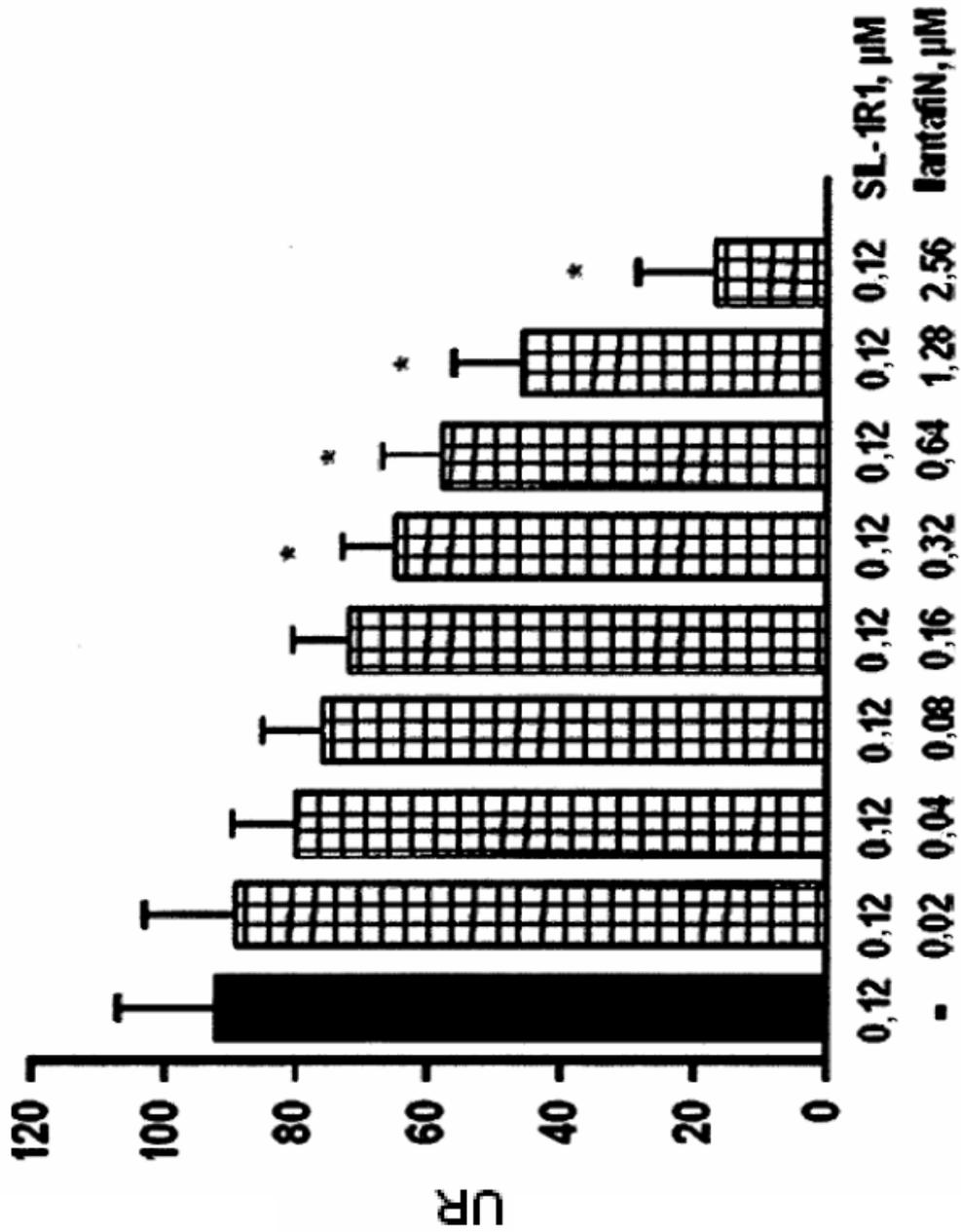


Figura 5

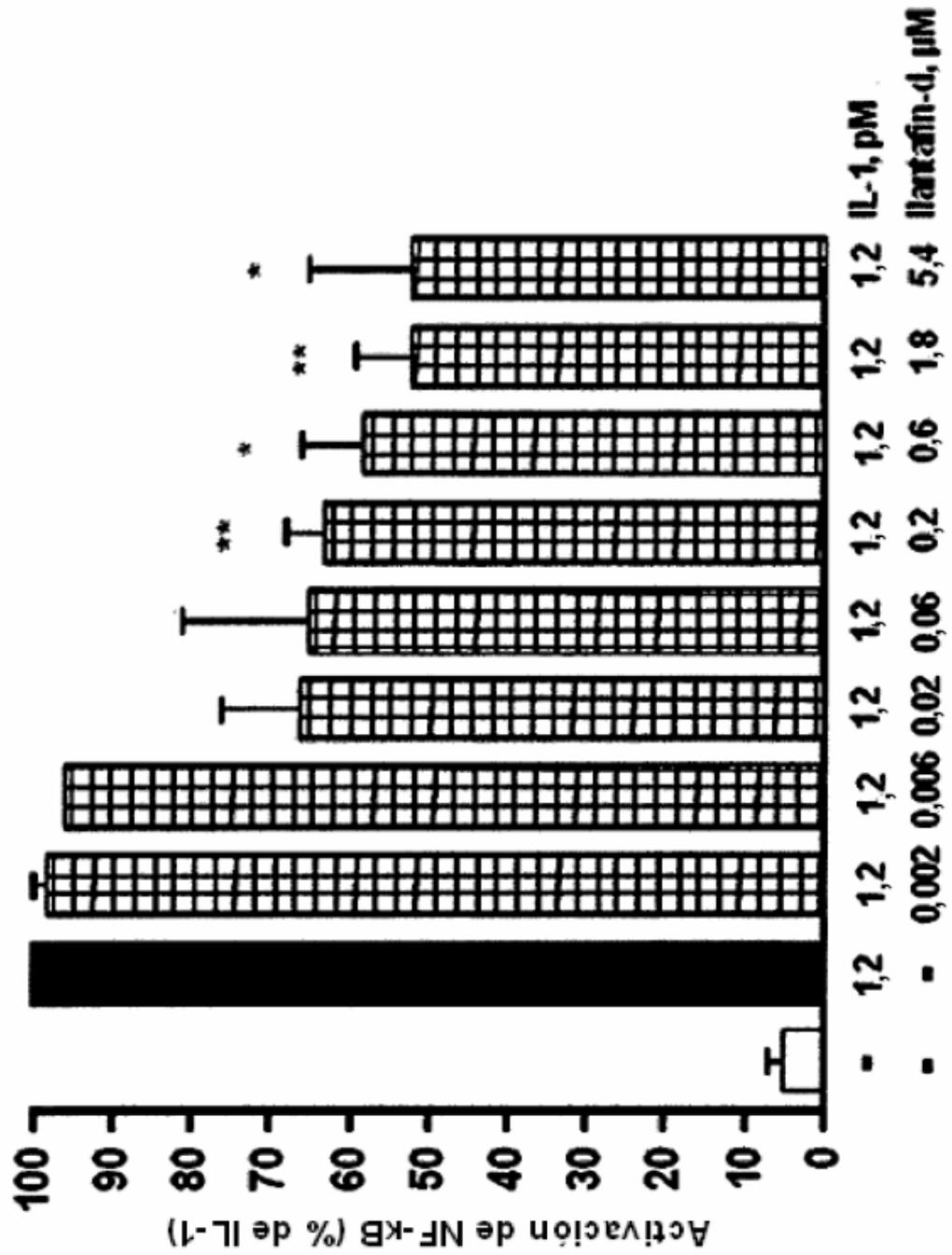


Figura 6

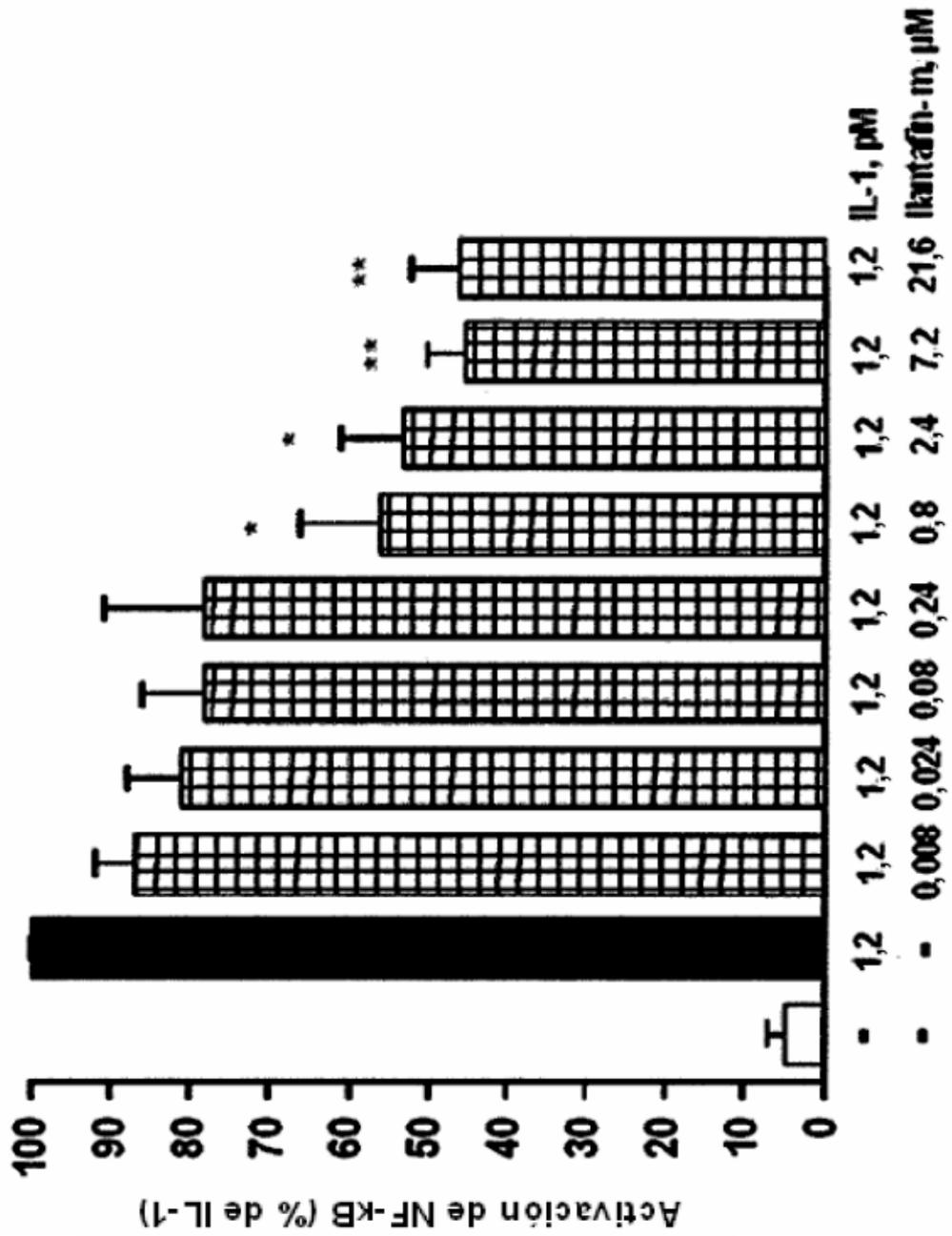


Figura 7A

A

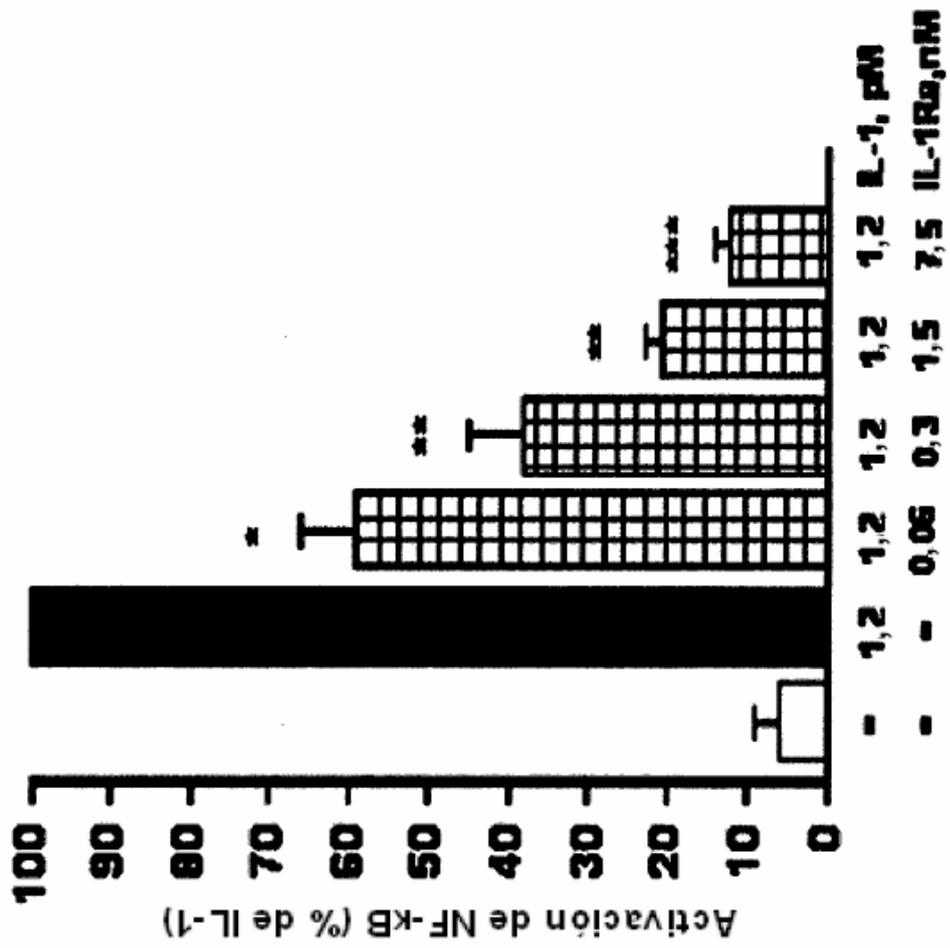




Figura 8

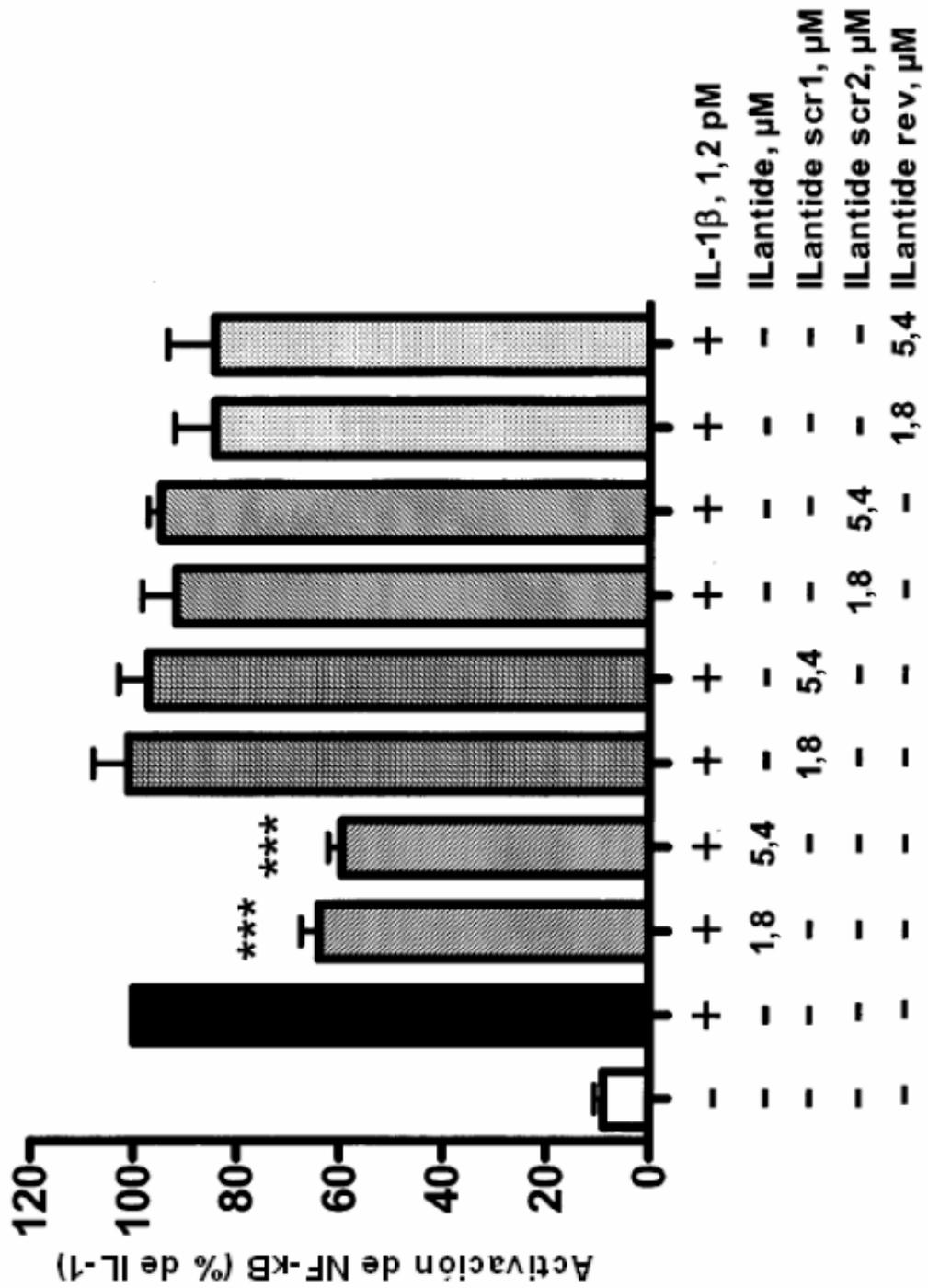


Figura 9

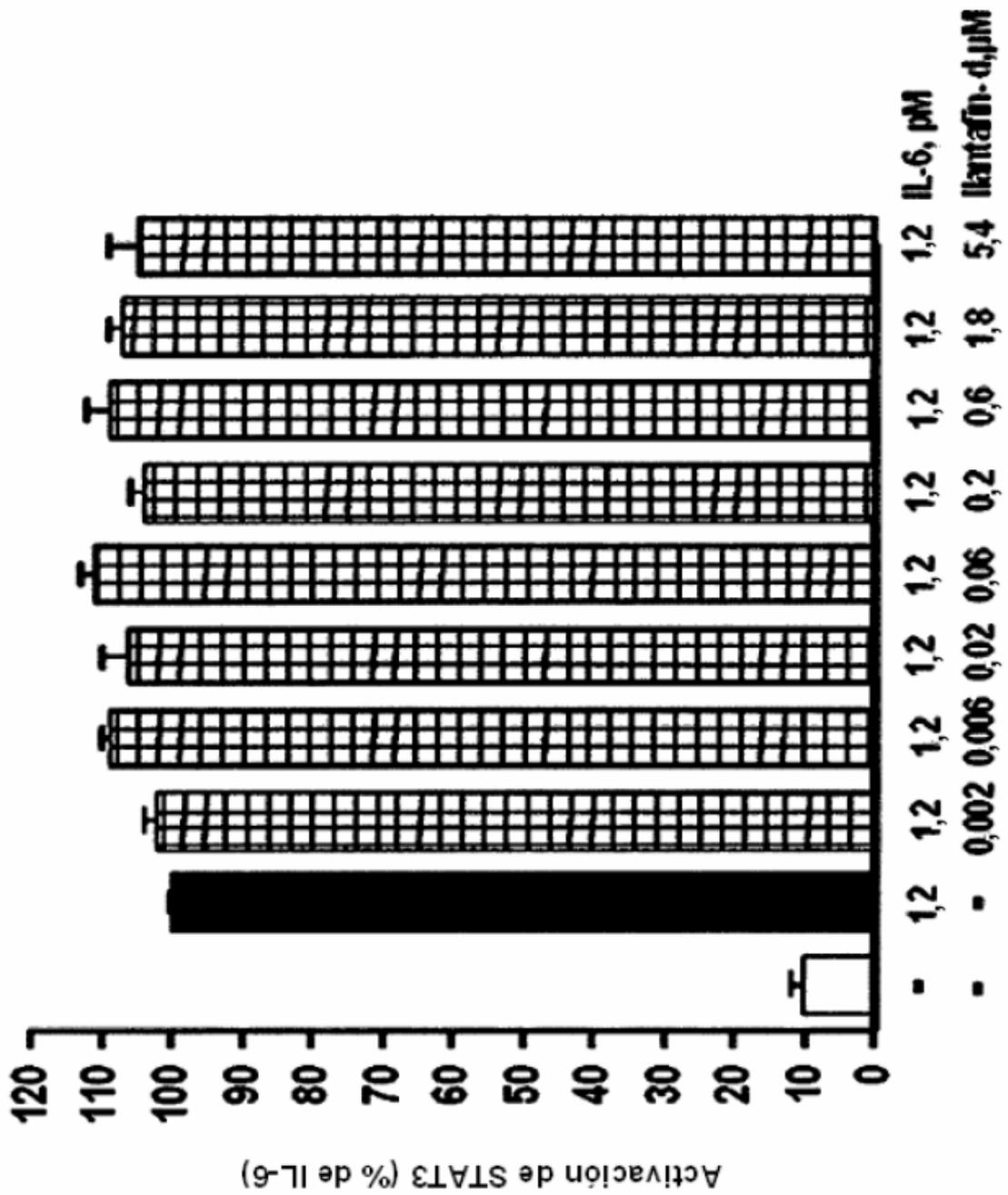


Figura 10

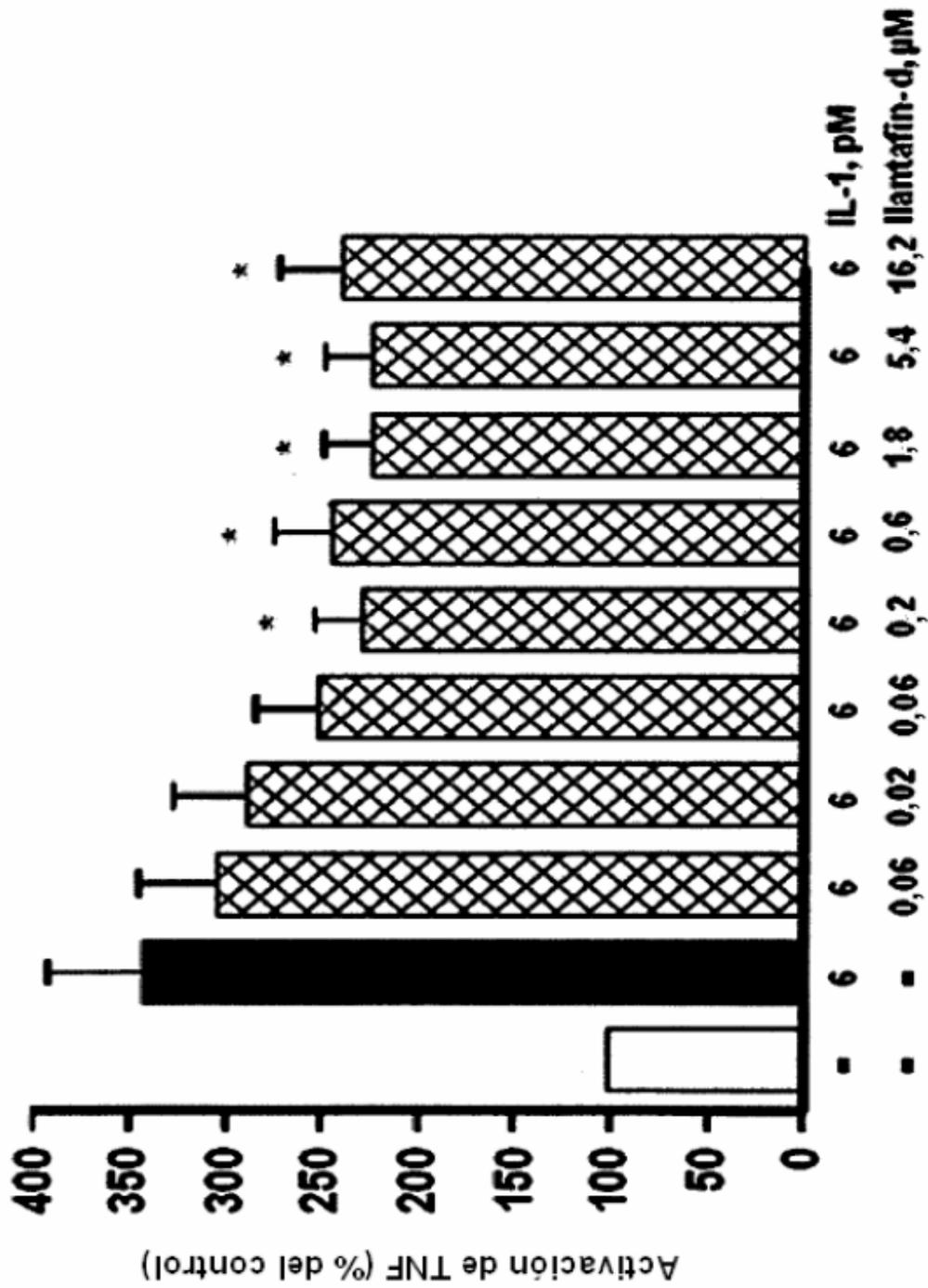


Figura 11

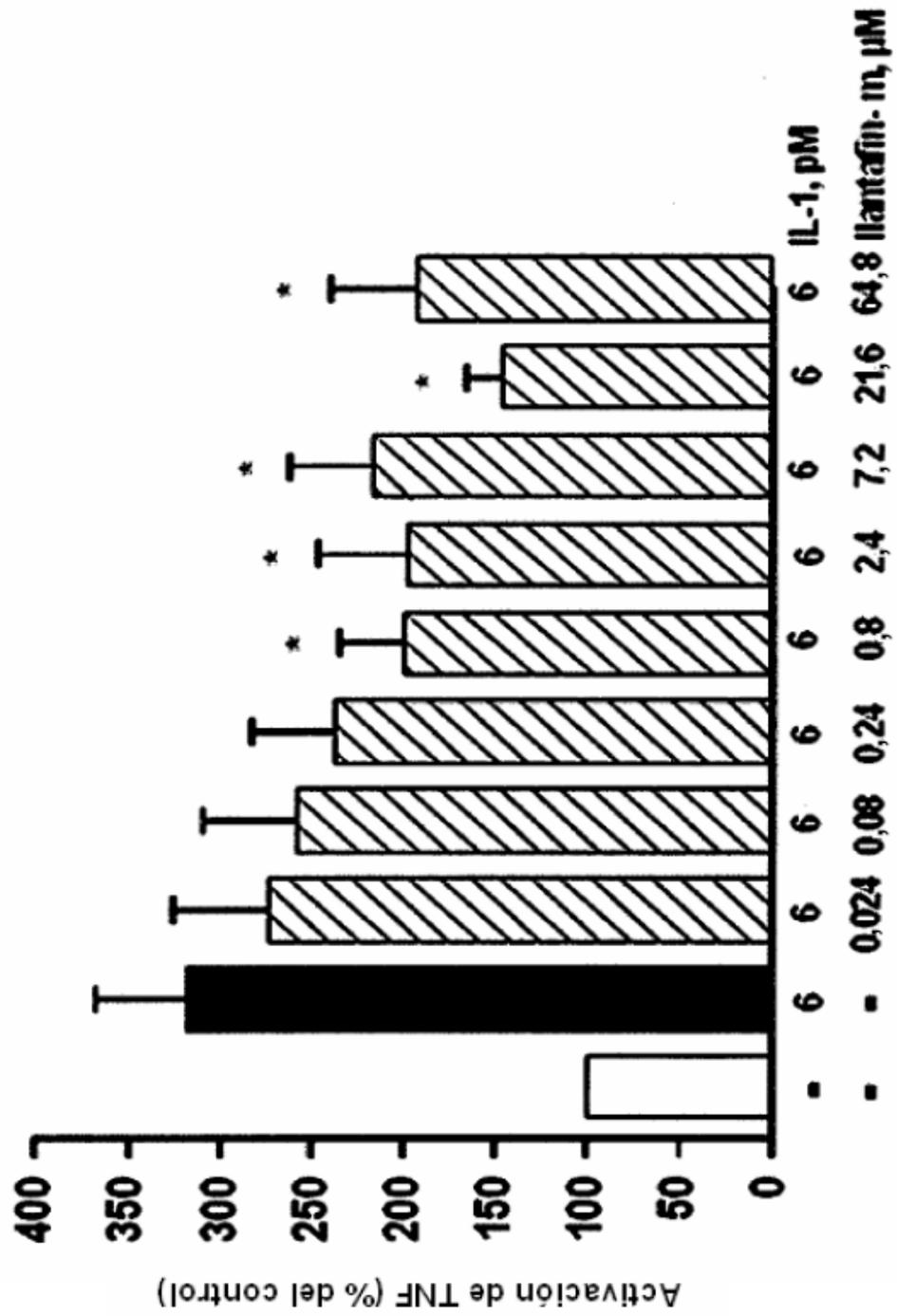


Figura 12A

A

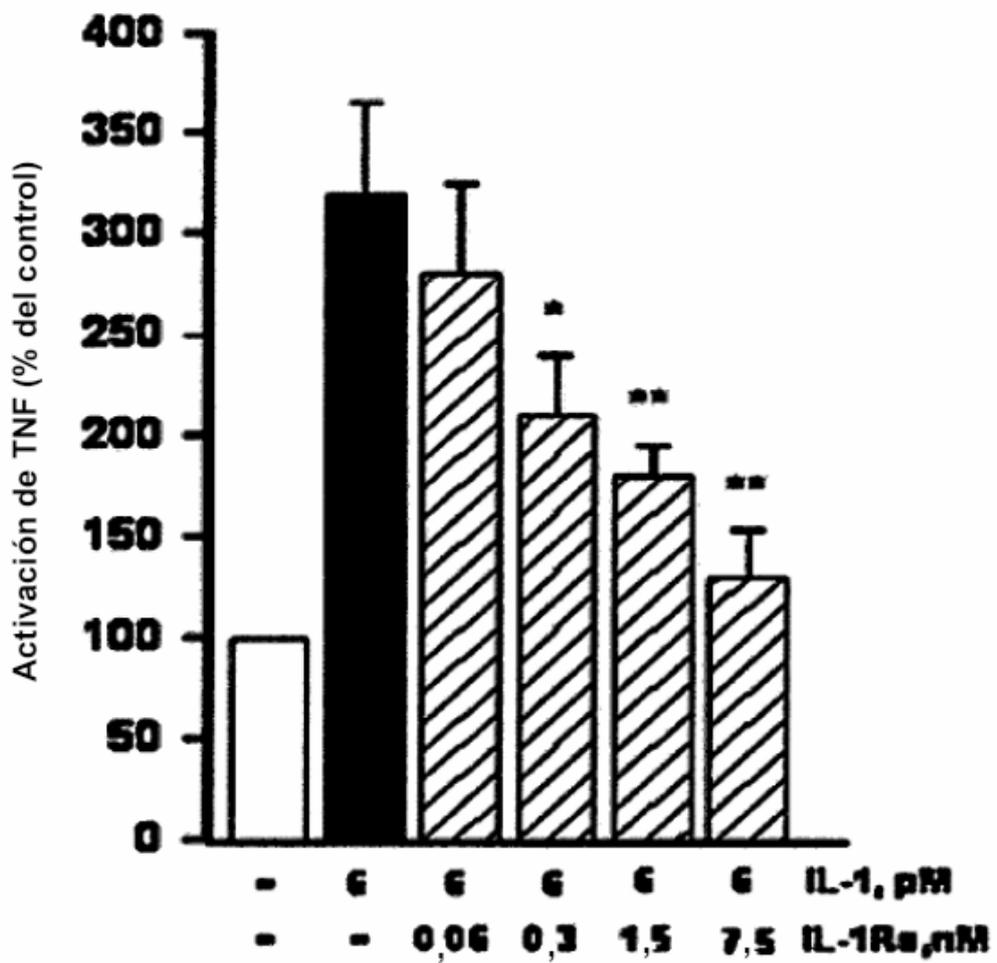


Figura 12B

**B**

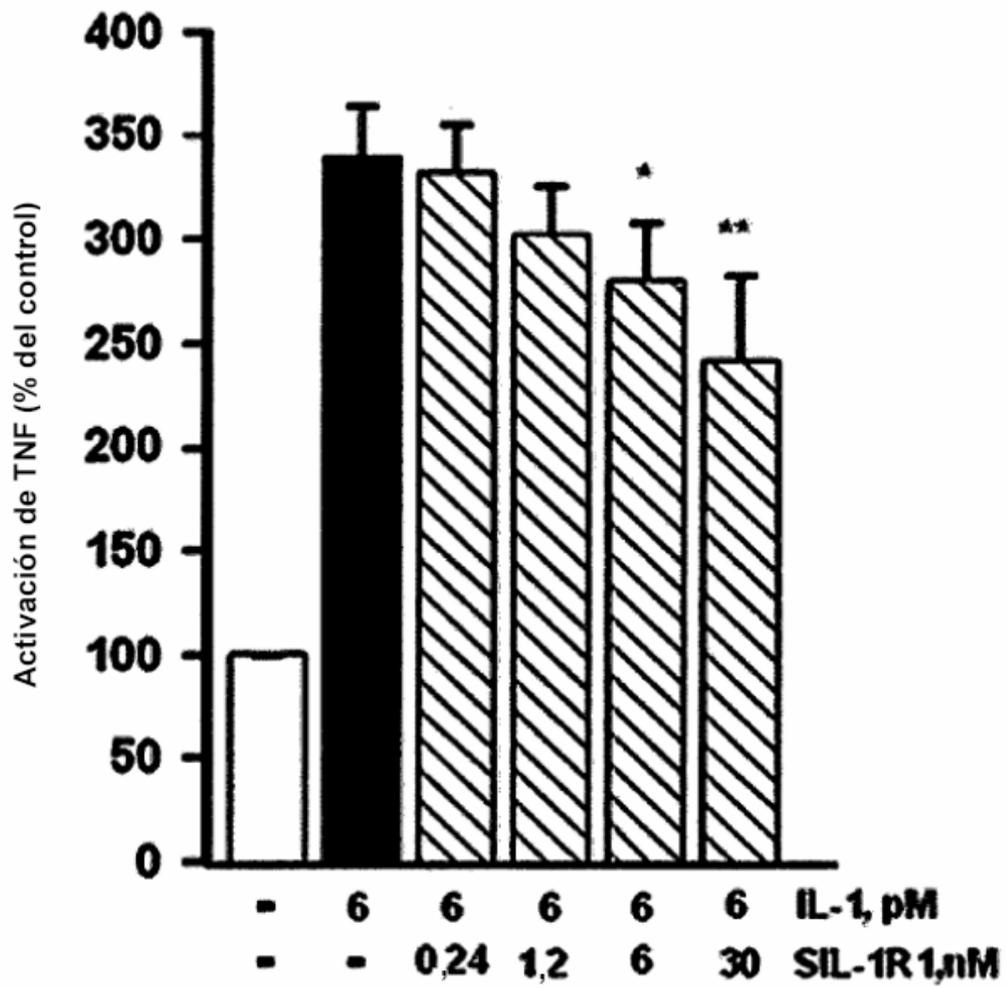


Figura 13A

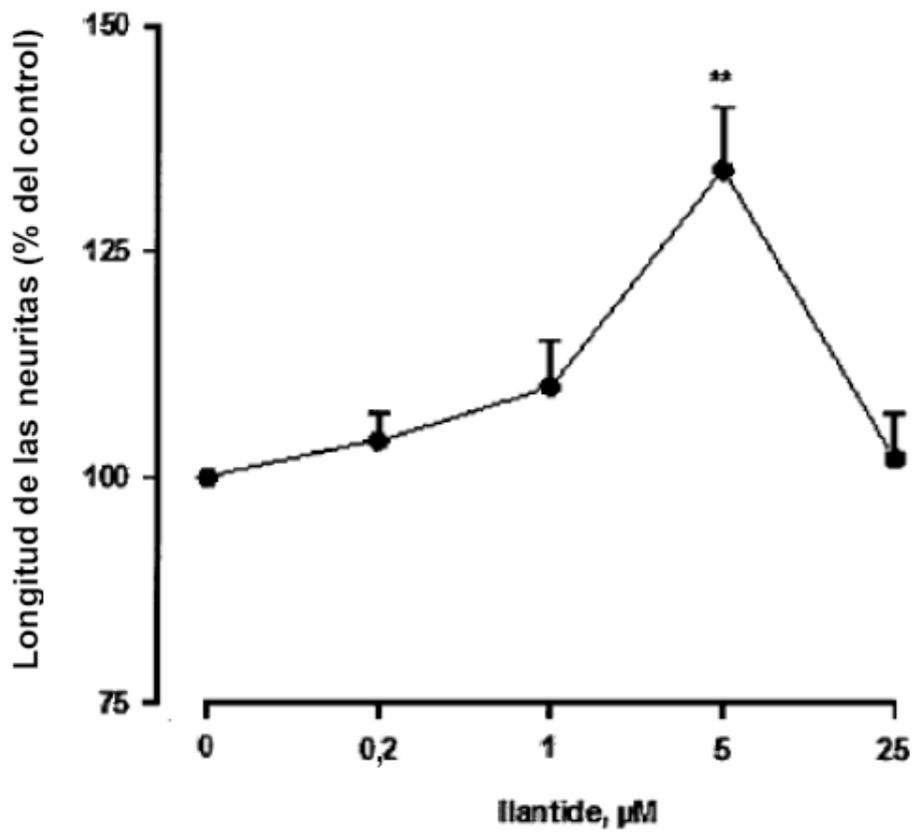


Figura 13B

**B**

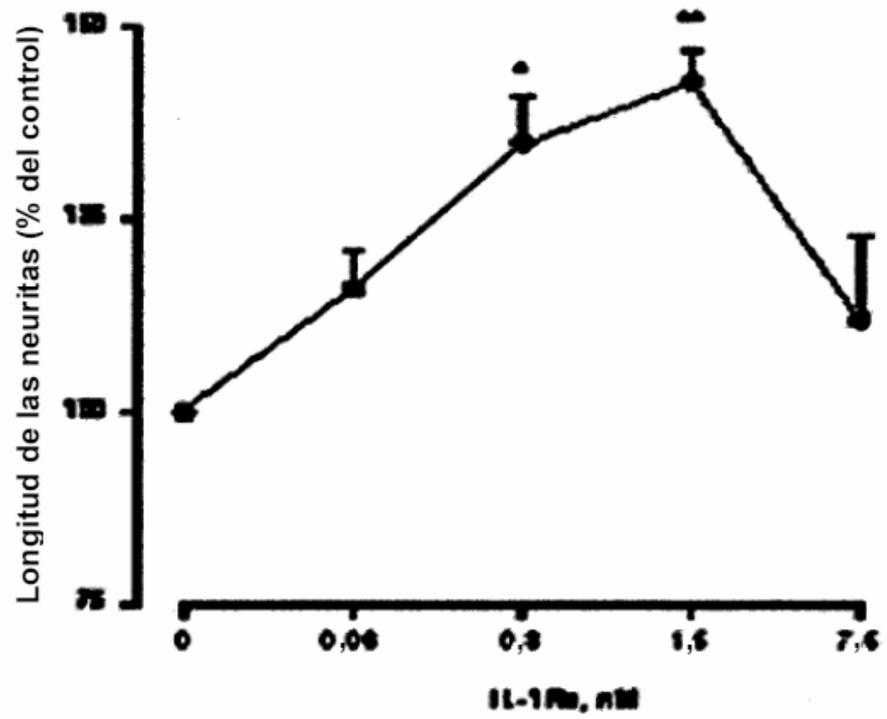


Figura 13C

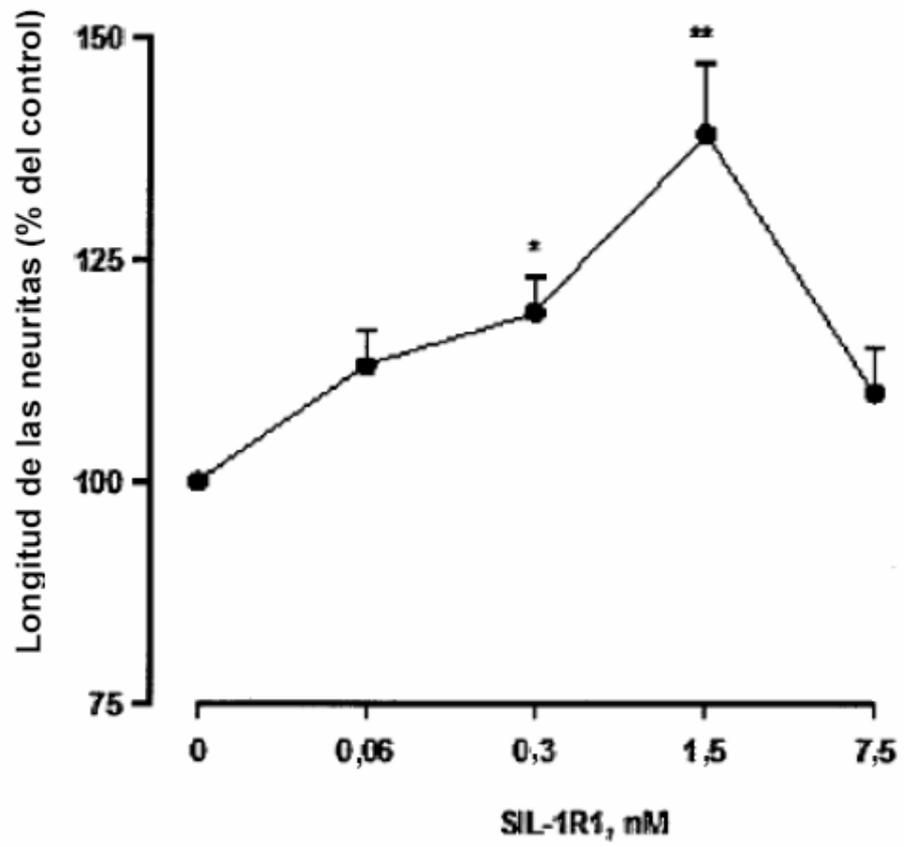


Figura 13D

D

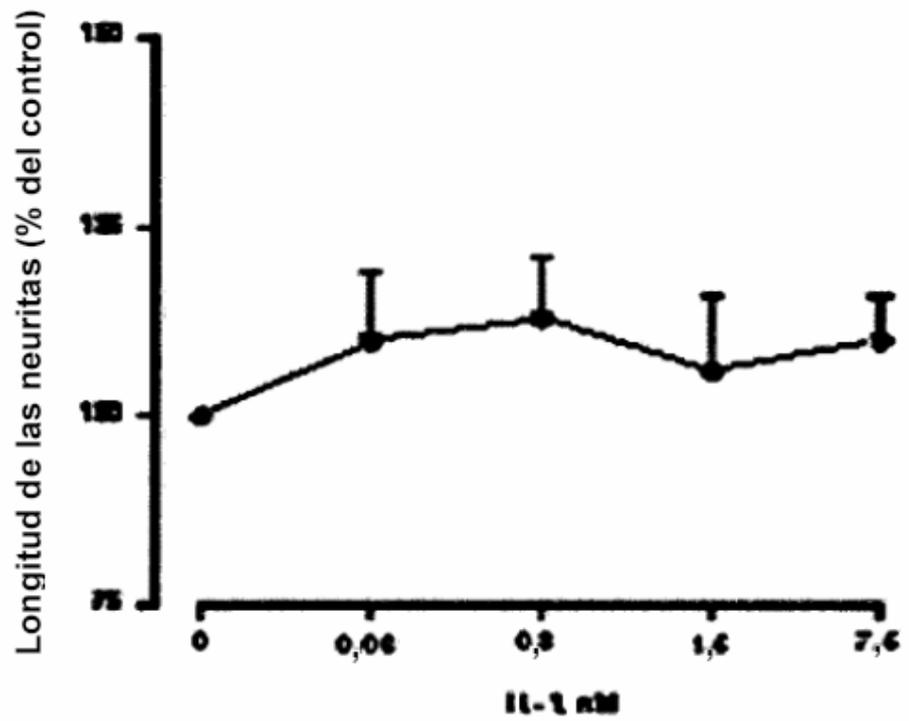


Figura 14A

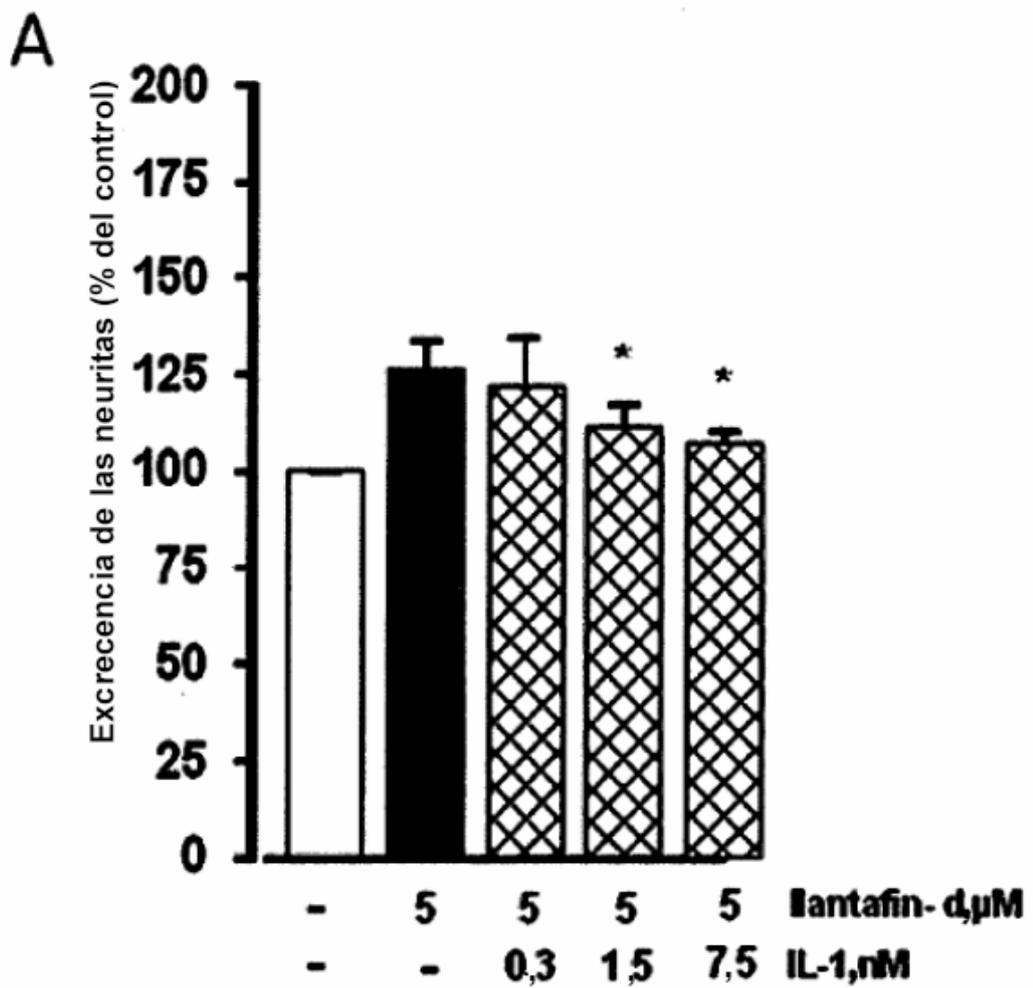


Figura 14B

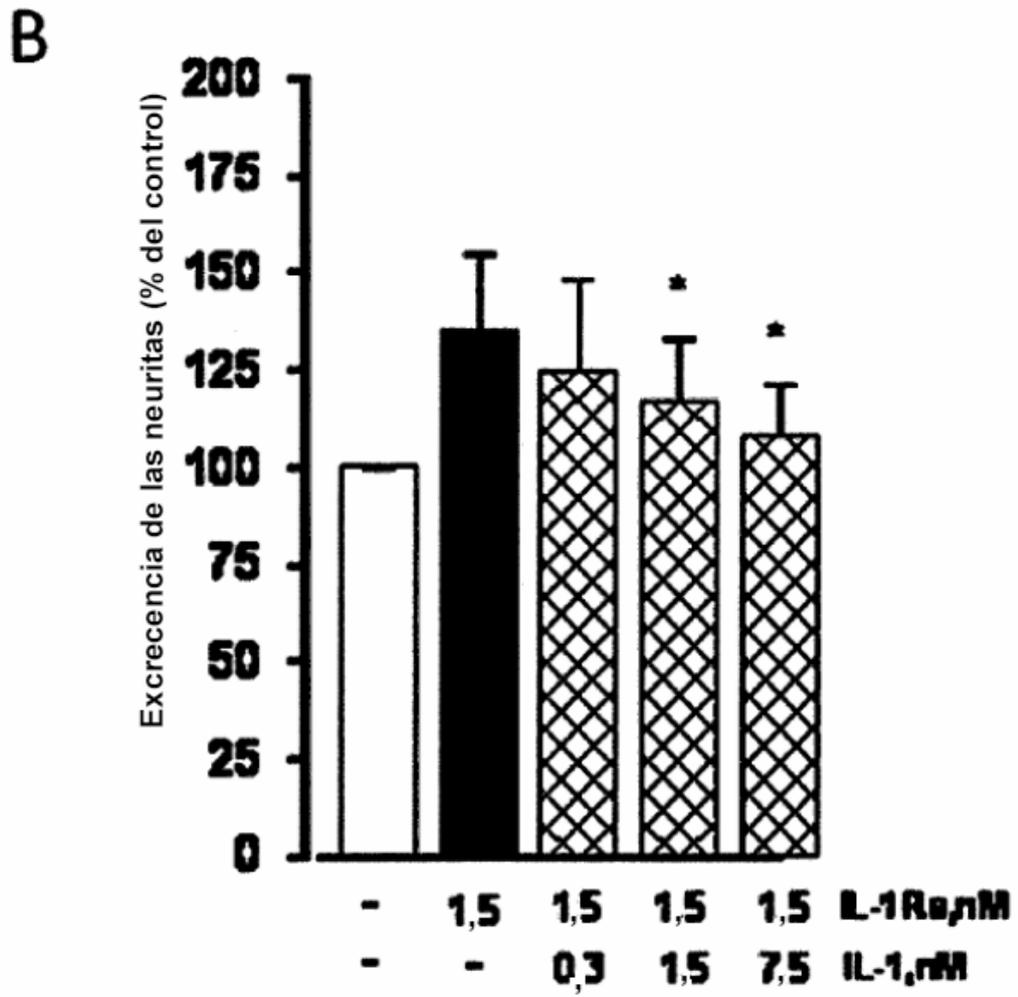


Figura 15A

A

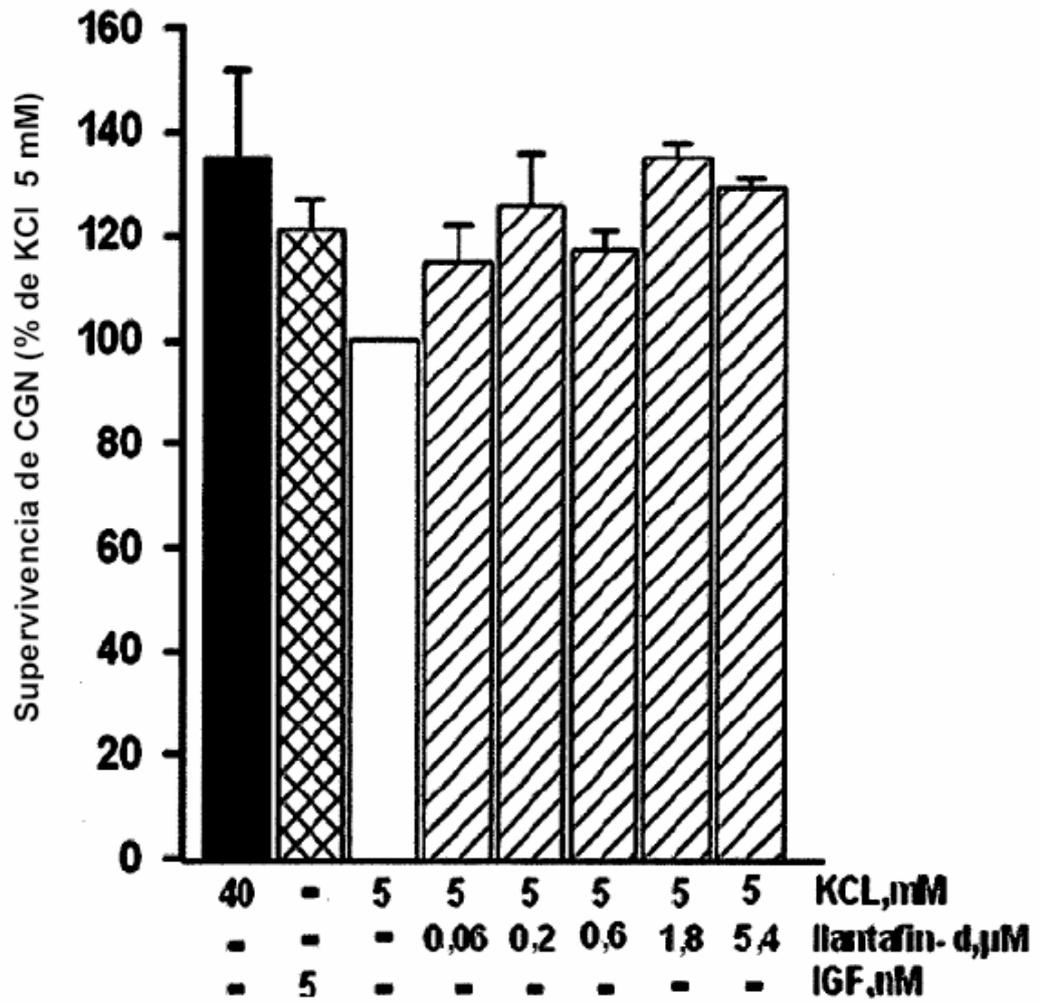


Figura 15B

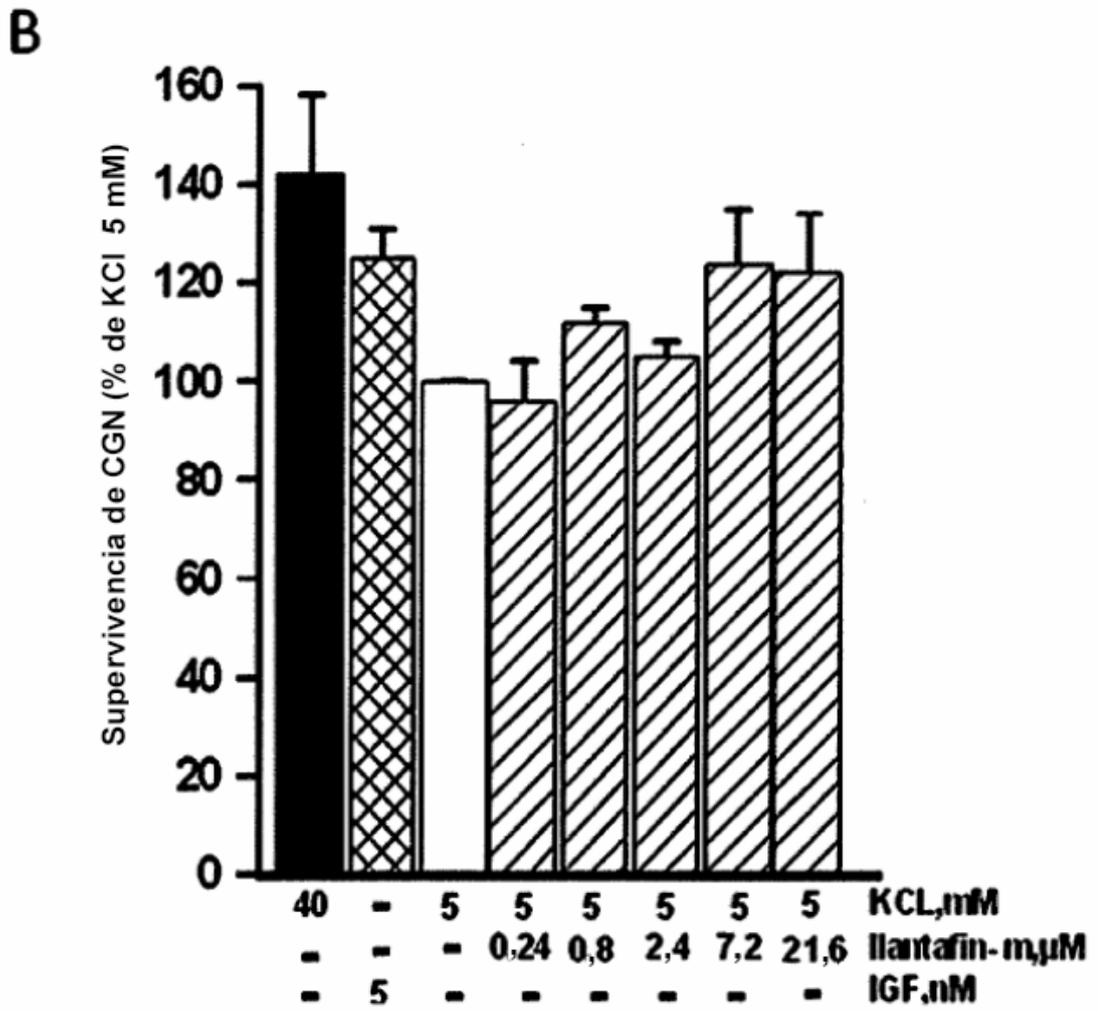


Figura 16

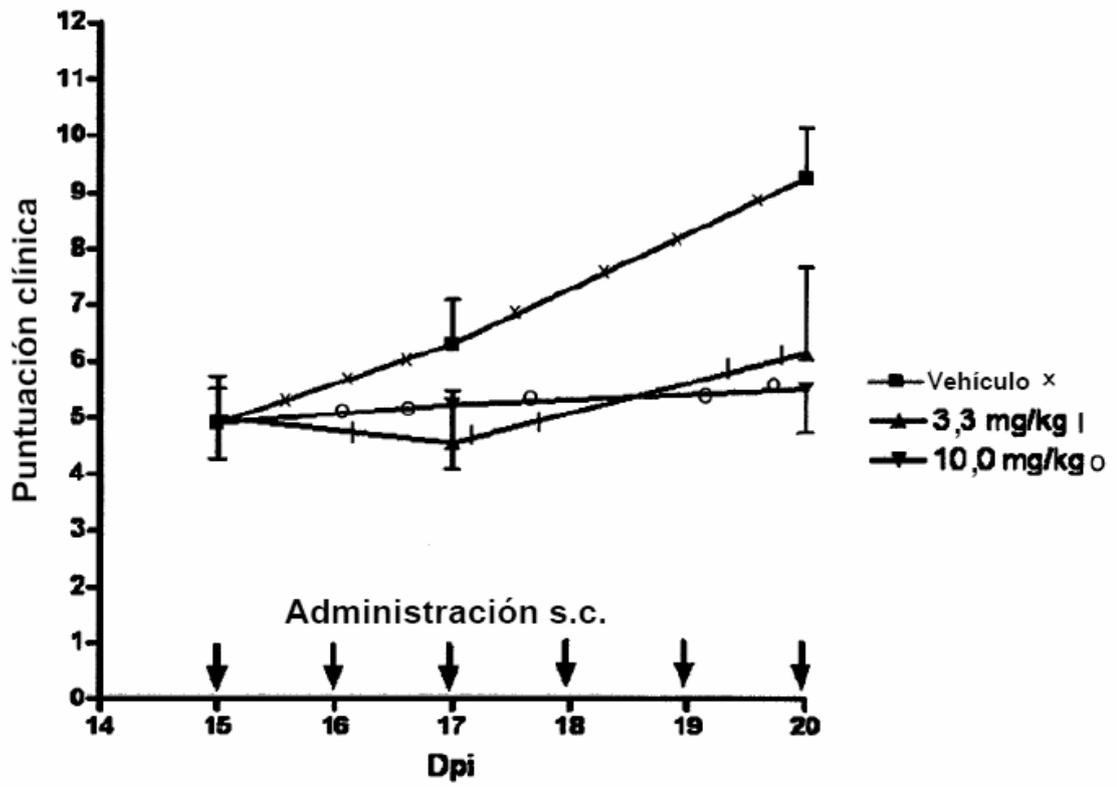


Figura 17

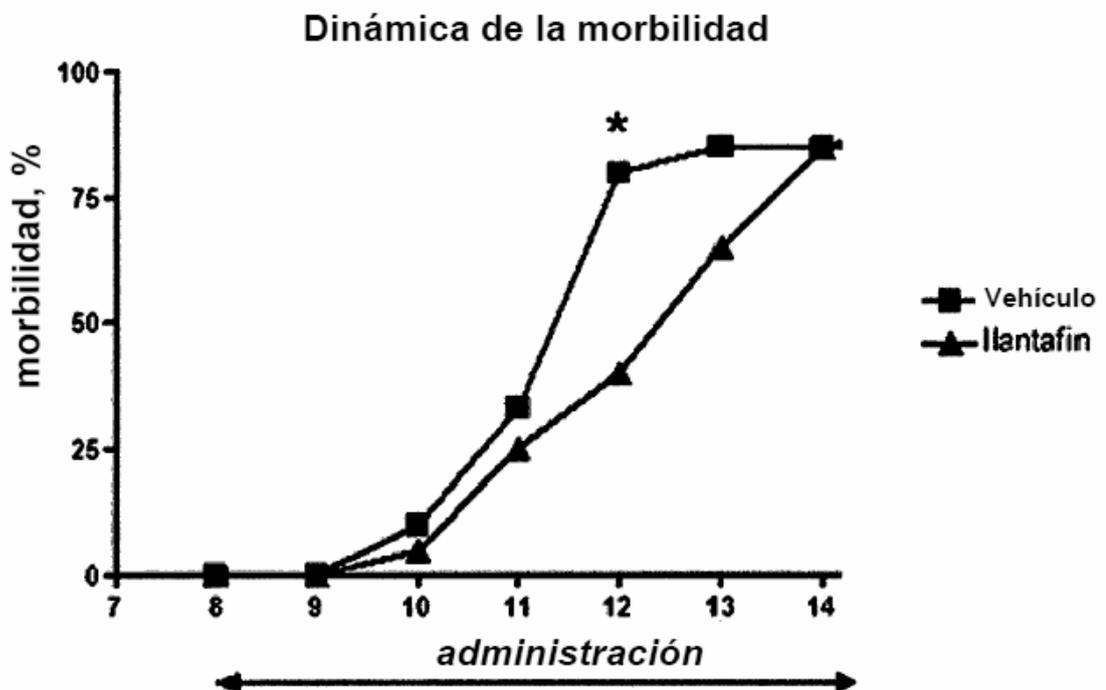


Figura 18

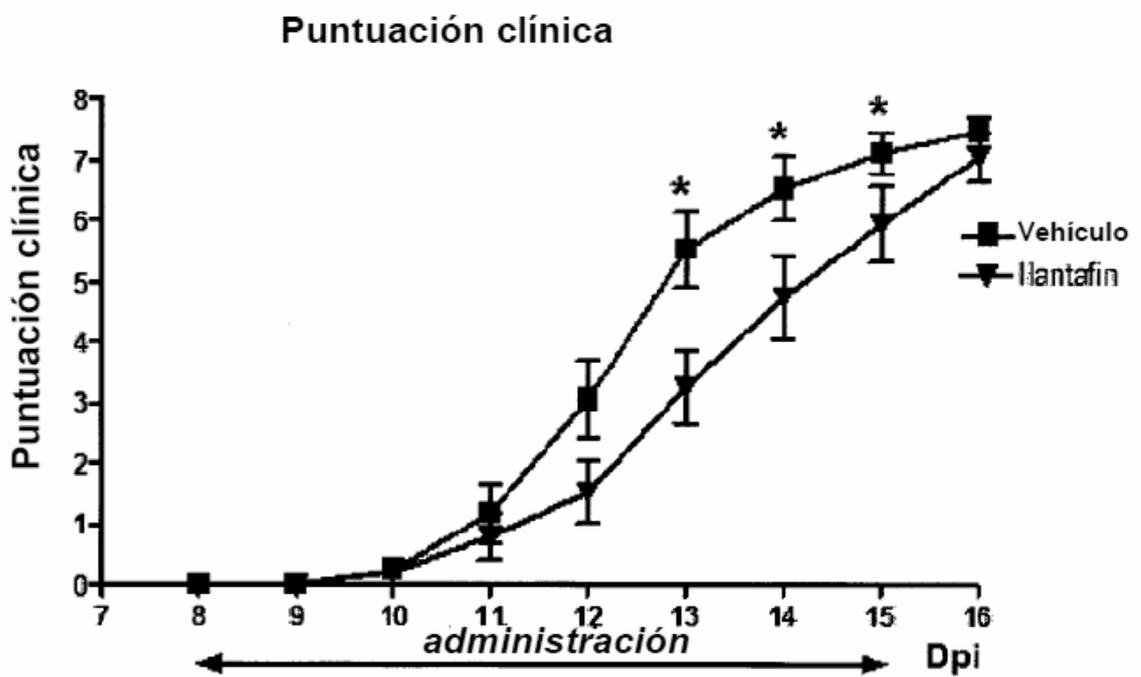


Figura 19A

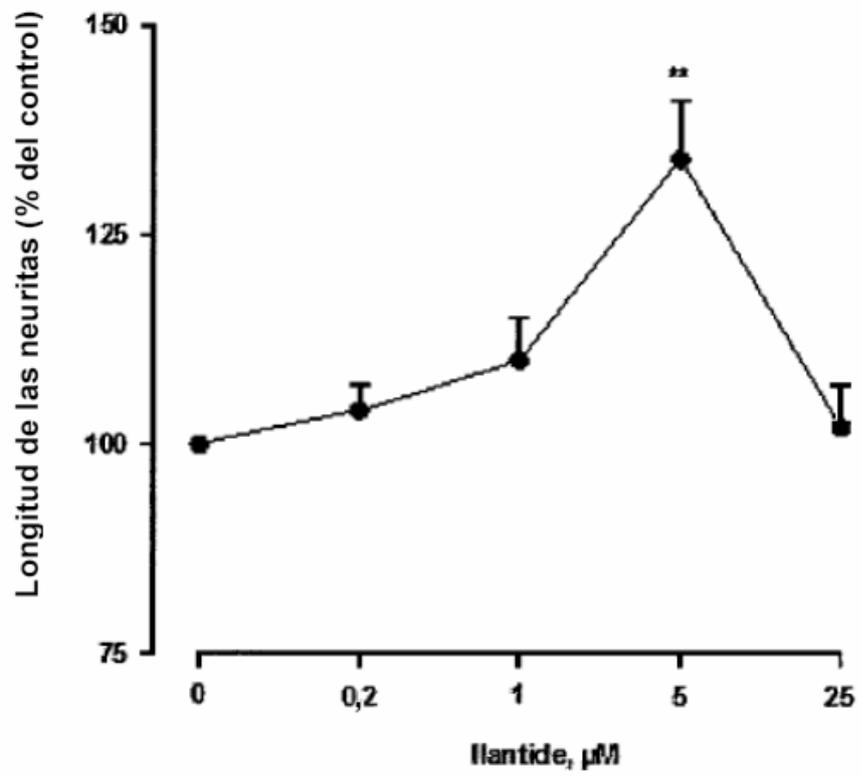


Figura 19B

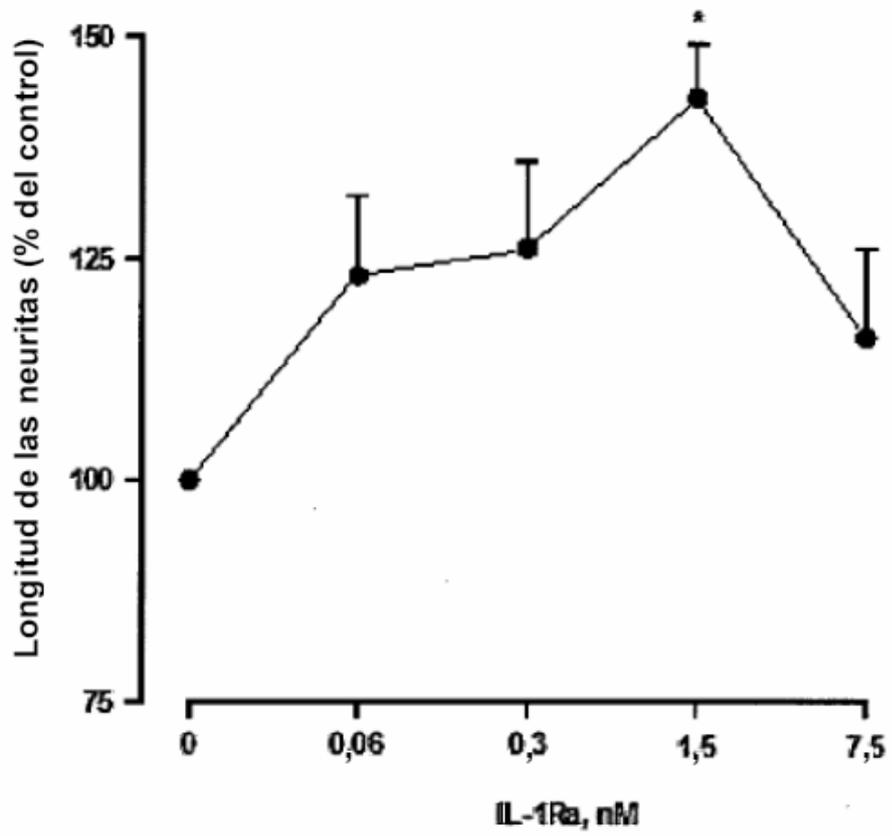


Figura 19C

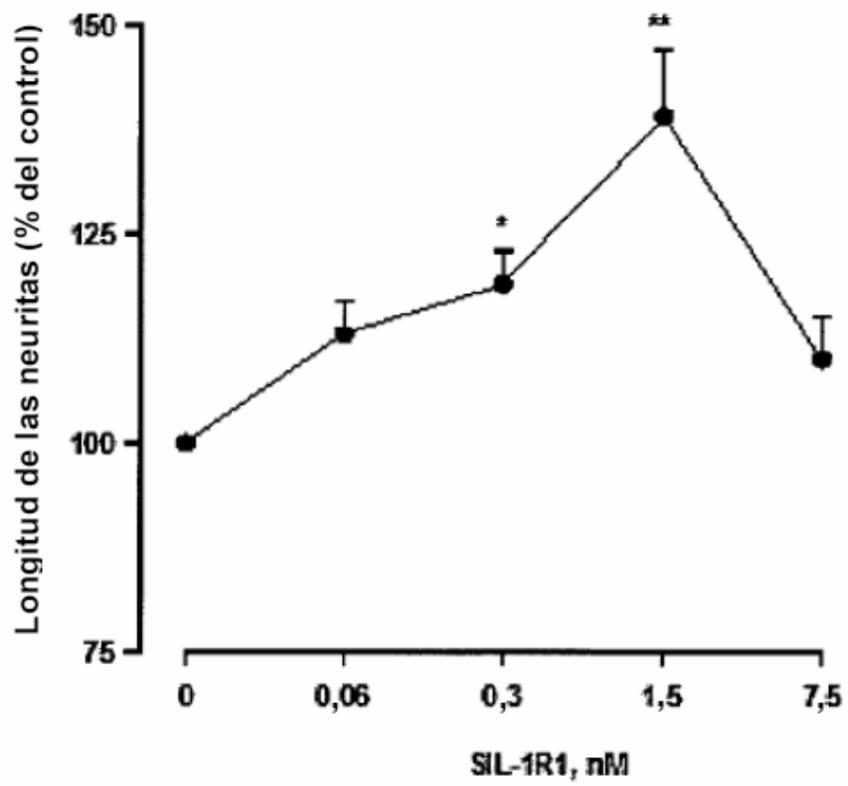


Figura 19D

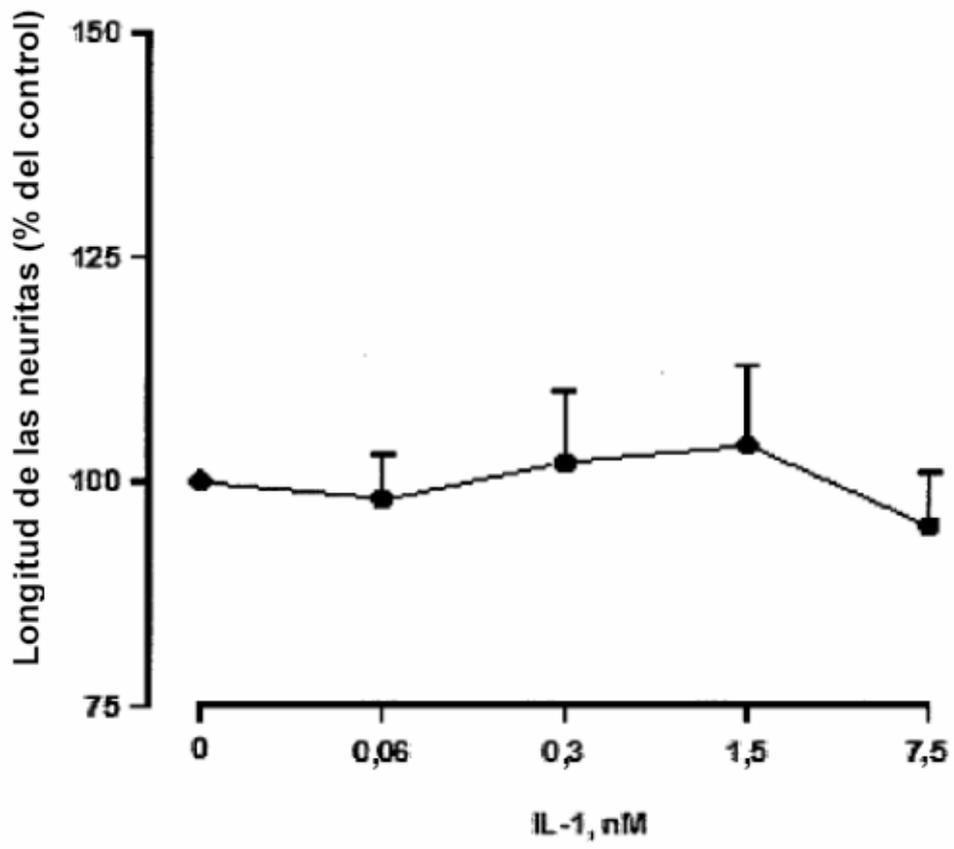


Figura 20A

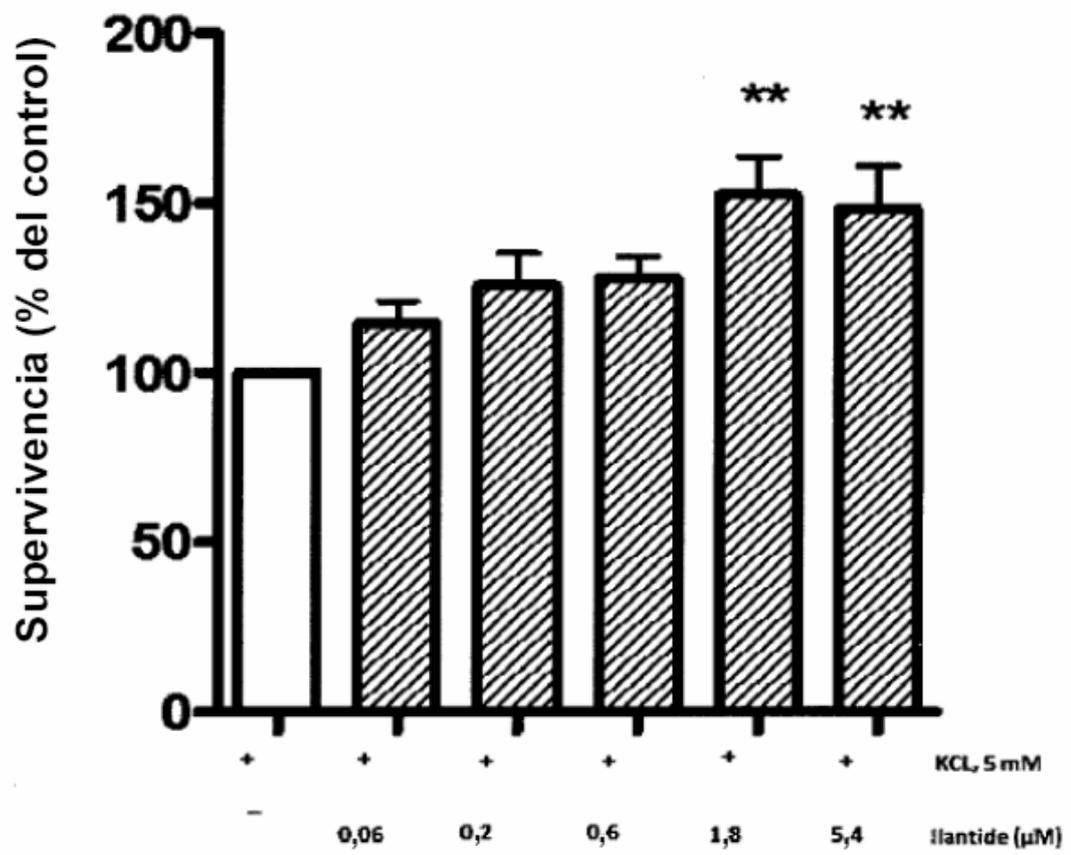


Figura 20B

