

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 001**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/26** (2006.01)

**A61K 38/22** (2006.01)

**A61P 19/02** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.08.2013 PCT/FR2013/051998**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.02.2014 WO2014023923**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2013 E 13774714 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2890390**

54 Título: **Tratamiento de la artrosis por hormonas incretinas o sus análogos**

30 Prioridad:

**30.08.2012 FR 1258100**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.06.2017**

73 Titular/es:

**UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE (PARIS 6)  
(50.0%)  
4, Place Jussieu  
75005 Paris, FR y  
ASSISTANCE PUBLIQUE - HÔPITAUX DE PARIS  
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**BERENBAUM, FRANCIS;  
BOUGAULT, CAROLE y  
ATTALI, CLAIRE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 615 001 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Tratamiento de la artrosis por hormonas incretinas o sus análogos

La presente invención se refiere al campo de la medicina y más particularmente al tratamiento de la artrosis.

**Antecedentes tecnológicos de la invención**

5 La artrosis o artropatía crónica degenerativa es una enfermedad crónica de las articulaciones caracterizada por un deterioro estructural del cartílago articular. Los síntomas de esta patología pueden variar dependiendo de la articulación afectada, pero generalmente se caracterizan por un dolor persistente asociado a una molestia funcional, es decir, a una limitación de la movilidad de la articulación afectada.

10 El cartílago articular es un tejido conjuntivo compuesto de condrocitos y una matriz extracelular esencialmente formada de agua, proteoglicanos y colágeno. Los condrocitos tienen una función fundamental en la homeóstasis de la matriz extracelular garantizando la síntesis y la renovación. El mantenimiento del cartílago depende por lo tanto de los cambios complejos continuos entre los condrocitos y la matriz y está sometido permanentemente a un equilibrio crítico entre los mecanismos de degradación, bajo la influencia de citoquinas destructoras, principalmente las citoquinas pro-inflamatorias TNF- $\alpha$  e IL -1 $\beta$ , y los mecanismos de síntesis o restauración bajo el efecto de citoquinas moduladoras y de los factores de crecimiento, principalmente IGF-1, TGF- $\beta$  y ciertas proteínas morfogenéticas óseas (abreviadamente BMP, por la expresión inglesa *Bone Morphogenetic Proteins*).

15 La destrucción artrósica del cartílago es el resultado de un desequilibrio entre los mecanismos del anabolismo y del catabolismo de la matriz extracelular. Varios factores pueden favorecer la rotura de la homeóstasis de la matriz, principalmente factores mecánicos relacionados, por ejemplo, con una sobrecarga de las articulaciones en un paciente obeso, un traumatismo, microtraumatismos repetidos o vicios estructurales de la articulación, factores metabólicos, genéticos, hormonales o incluso el envejecimiento. Sin embargo, la iniciación del proceso artrósico es aún hoy en día muy mal entendida.

20 El desequilibrio entre los mecanismos de anabolismo y de catabolismo se traduce esencialmente en un aumento de la síntesis de metaloproteasas (MMP) (Blanc et al., 1999), una disminución de la síntesis de los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (abreviadamente TIMP, por la expresión inglesa *Tissue Inhibitors of Metalloproteinases*, los inhibidores de las MMP fisiológicas) y una inhibición de la síntesis de los constituyentes de la matriz por los condrocitos. Este desequilibrio se acentúa por un fenómeno de apoptosis condrocitaria acelerada (Hashimoto et al., 1998) y por la activación condrocitaria por medio de diferentes mediadores liberados por el tejido sinovial (Sellam and Berenbaum, 2010). La citoquina pro-inflamatoria IL-1 $\beta$  sintetizada por los condrocitos y los sinoviocitos, tiene un papel importante en este proceso de destrucción artrósica. Induce no sólo el aumento de la producción de las MMP por los condrocitos, sino también la reducción de las capacidades anabólicas y la apoptosis de estas células (Goldring et al., 2008). Además, el hueso subcondral también participa en los fenómenos de degradación de la matriz, en particular por medio de la secreción de enzimas proteolíticas por los osteoblastos (Sánchez et al., 2012).

25 Las metaloproteasas matriciales (MMP) implicadas en la proteólisis matricial de la artrosis son colagenasas, estromelisininas, gelatinasas y metaloproteasas membranas (Rannou et al., 2005). Todas estas enzimas no son específicas del cartílago y están implicadas en numerosos procesos fisiológicos, principalmente en la remodelación de numerosos tejidos conjuntivos (Nagase et al., 1999). Las colagenasas intersticiales (MMP-1, -8, -13) son capaces de degradar los colágenos I, II, III, IV y VII. El colágeno así desnaturalizado por estas enzimas se convierte en un sustrato para las gelatinasas. Las estromelisininas (MMP-3, -10, -11) son capaces de degradar los proteoglicanos, la gelatina, la fibronectina y el colágeno de tipo IX, pero sólo la MMP-3 parece implicada en la degradación de la matriz cartilaginosa (Stove et al., 2001). Las gelatinasas (MMP-2 y -9) degradan el colágeno intersticial desnaturalizado y los colágenos de tipos IV y V. Además, se ha demostrado que las MMP-1, -3 y -13 son igualmente capaces de degradar los proteoglicanos (Little et al., 2002). Otras enzimas, en particular las agregasas ADAMTS-4 y -5, desempeñarían igualmente un papel en la proteólisis matricial (Fosang and Little, 2008).

30 Además de las metaloproteasas, otros mediadores catabólicos participan en la degeneración artrósica, especialmente la prostaglandina E2 (PGE2), que está implicada en la degradación del cartílago y la apoptosis de los condrocitos (Hardy et al., 2002; Miwa et al., 2000).

35 Los tratamientos propuestos a los pacientes con artrosis son sintomáticos porque en la actualidad no existe ningún tratamiento curativo de esta patología. Los tratamientos farmacológicos son tratamientos sintomáticos de acción inmediata (analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos) o de acción retardada (por ejemplo, medicamentos que comprenden sulfato de condroitina (Structum, Chondrosulf), diacereína (Art 50, Zondar), extractos insaponificables de aguacate y de soja (piascledine) o ácido hialurónico.

40 Debido a su papel clave en la destrucción del cartílago, las metaloproteasas se han convertido en las principales dianas en la búsqueda de nuevos compuestos capaces de ralentizar o detener la evolución de la artrosis. Sin embargo, estas proteínas están implicadas en numerosos procesos fisiológicos y su inhibición puede producir efectos

secundarios imprevisibles. Este fue el caso, por ejemplo, con el compuesto PG-116800 cuya toxicidad musculoesquelética se ha revelado en los ensayos clínicos (Krzeski et al., 2007).

En la actualidad, la artrosis afecta a aproximadamente de nueve a diez millones de personas en Francia, de las cuales 4,6 millones padecen una artrosis sintomática. Teniendo en cuenta el envejecimiento de la población así como el aumento de la prevalencia de la obesidad en los países desarrollados, se espera un fuerte aumento del número de pacientes aftósicos en los próximos años. Este aumento será extremadamente costoso tanto en términos de calidad de vida como desde el punto de vista económico para el tratamiento de los pacientes. Por lo tanto, sigue siendo crucial desarrollar rápidamente nuevas estrategias para inhibir o ralentizar la destrucción del cartílago en el sujeto artrósico.

## 10 Sumario de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos que puedan ser útiles en el tratamiento de la artrosis.

Los inventores han demostrado que las hormonas incretinas GLP-1 ("péptido similar al glucagón 1") y GIP ("péptido inhibidor gástrico" o "polipéptido insulínico dependiente de glucosa") son capaces de inhibir la sobreexpresión de varias metaloproteasas (MMP-3, MMP-13 y MMP-9) y de la prostaglandina E2 (PGE2) en los osteoblastos y los condrocitos en respuesta a la citoquina pro-inflamatoria IL-1 $\beta$ . También han demostrado que las hormonas incretinas son capaces de bloquear la sobreexpresión de varios mediadores prodegradantes implicados en el proceso de destrucción artrósica.

Así, la presente invención se refiere a una hormona incretina o un análogo de ella, para uso en el tratamiento de la artrosis. Más particularmente, la invención se refiere a un péptido, seleccionado del grupo que consiste en péptido GLP-1, péptido GIP y sus análogos resistentes a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV), para su uso en el tratamiento de la artrosis.

El péptido utilizado según la invención puede comprender principalmente una secuencia seleccionada del grupo constituido por las secuencias SEQ ID NO: 1 a 6.

En particular, el péptido se puede seleccionar del grupo que consiste en péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4), péptido GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 3) y péptido GIP (1-42) (SEQ ID NO: 6). Preferiblemente, el péptido se selecciona del grupo que consiste en péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4) y péptido GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 3).

El péptido puede ser igualmente un análogo del péptido GLP-1 o GIP resistente a la DPP-IV. Preferiblemente, el péptido es un análogo del péptido GLP-1 resistente a la DPP-IV, en particular un análogo seleccionado del grupo que consiste en exenatida, liraglutida, exendina-4, albiglutida, taspoglutida, lixisenatida, LY315902, dulaglutida (LY2189265), LY2199265, LY2428757, semaglutida (NN9535), CJC-1131, CJC-1134 y ZP10. El péptido puede ser también un análogo seleccionado del grupo que consiste en exenatida, liraglutida, exendina-4, albiglutida, taspoglutida, lixisenatida, LY315902, LY2199265, LY2428757, NN9535, CJC-1131, CJC-1134 y ZP10. Más particularmente preferido, el péptido es un análogo seleccionado del grupo que consiste en exenatida y liraglutida.

El péptido utilizado según la invención se puede utilizar en el tratamiento de la artrosis en combinación con una u otras varias sustancias activas. En este caso, el péptido y la o las otras sustancias activas se administran simultánea o secuencialmente.

El péptido utilizado según la invención se puede utilizar principalmente en combinación con inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV, preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en sitagliptina, saxagliptina, vildagliptina, alogliptina y linagliptina u otras sustancias, tales como analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos, anti-inflamatorios esteroideos y antiartrósicos de acción lenta. El péptido también puede administrarse en asociación con tratamientos locales de la artrosis.

El péptido utilizado según la invención se puede administrar en su forma madura, en forma de un precursor o en forma de un ácido nucleico que codifica dicho péptido.

Preferiblemente, el péptido utilizado según la invención está destinado a ser administrado por vía oral, subcutánea, intravenosa o intra-articular.

La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende uno o varios péptidos, tales como los utilizados de acuerdo con la invención, y uno o varios vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento de la artrosis.

La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende uno o varios péptidos, tales como los utilizados de acuerdo con la invención, o uno o varios ácidos nucleicos que codifican uno o varios péptidos, tales como los utilizados de acuerdo con la invención, y uno o varios vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento de la artrosis.

La composición puede comprender además una u otras varias sustancias activas, principalmente uno o varios inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV, seleccionados preferiblemente del grupo que consiste en sitagliptina, saxagliptina, vildagliptina, alogliptina y linagliptina, u otras sustancias activas tales como analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos, anti-inflamatorios esteroideos y antiartrósicos de acción lenta.

- 5 La composición se puede formular en forma de una composición ingerible o inyectable, preferiblemente en forma de una composición destinada a ser administrada por vía oral, subcutánea, intravenosa o intra-articular.

#### Breve descripción de los dibujos

10 Figura 1: Efecto de los péptidos GLP-1 (7-36)-amida, GLP-1 (7-37) y GIP sobre la inducción de la expresión de las enzimas MMP-3, MMP-9 y MMP-13 en los condrocitos en respuesta a IL-1 $\beta$  (0,1 ng/mL o 1 ng/mL). Los valores obtenidos por RT-PCR cuantitativa en tiempo real están normalizados respecto a los valores obtenidos con el control (sin IL-1 $\beta$  y sin GLP-1 o GIP). A: expresión de MMP-3 y MMP-13 en presencia o ausencia de GLP-1 (7-36)-amida (10 nM); B: expresión de MMP-3 y MMP-13 en presencia o ausencia de GIP (10 nM); C: expresión de MMP-3 y MMP-13 en presencia o ausencia de GLP-1 (7-37) (10 nM); D: expresión de MMP-9 en presencia o ausencia de GLP-1 (7-36)-amida (10 nM), de GLP-1 (7-37) (10 nM) o de GIP (10 nM).

15 Figura 2: Efecto de los péptidos GLP-1 (7-36)-amida, GLP-1 (7-37) y GIP sobre la inducción de la expresión de las enzimas MMP-3, MMP-9 y MMP-13 en los osteoblastos en respuesta a IL-1 $\beta$  (0,1 ng/mL o 1 ng/mL). Los valores obtenidos por RT-PCR cuantitativa en tiempo real están normalizados respecto a los valores obtenidos con el control (sin IL-1 $\beta$  y sin GLP-1 o GIP). A: expresión de MMP-3 y MMP-13 en presencia o ausencia de GLP-1 (7-36)-amida (10 nM); B: expresión de MMP-3 y MMP-13 en presencia o ausencia de GIP (10 nM); C: expresión de MMP-3 y MMP-13 en presencia o ausencia de GLP-1 (7-37) (10 nM); D: expresión de MMP-9 en presencia o ausencia de GLP-1 (7-36)-amida (10 nM).

Figura 3: Efecto del péptido GLP-1 (7-36)-amida sobre la inducción de la liberación de prostaglandina E2 por los condrocitos en respuesta a IL-1 $\beta$  (1 ng/mL).

#### Descripción detallada de la invención

25 Las hormonas incretinas GLP-1 (péptido similar al glucagón 1) y GIP (péptido inhibidor gástrico o polipéptido insulínico dependiente de glucosa) son hormonas gastrointestinales liberadas por las células endocrinas del epitelio intestinal en respuesta a la absorción de nutrientes. El péptido GLP-1 se produce en las células L del íleon o del colon por escisión proteolítica de la molécula de pre-pro-glucagón en forma de un péptido inactivo de 37 aminoácidos. A continuación se escinden los seis residuos N-terminales para obtener las dos formas activas presentes en la sangre: GLP-1 (7-37) y la forma mayoritaria GLP-1 (7-36)-amida (Vahl et al., 2003). La hormona GIP es un péptido de 30 42 aminoácidos segregado por las células K del duodeno. Una vez en la circulación, estas hormonas son rápidamente inactivadas por la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV) (Deacon et al., 2005; Orskov et al., 1993).

La secreción de hormonas incretinas es estimulada por la glucosa que potencia el efecto sobre las células  $\beta$  pancreáticas segregadoras de insulina. Por tanto, tienen un efecto insulínico que solo es observado en respuesta a un aumento de la glucemia (glucemia post-prandial) (Kreymann et al., 1987). Numerosos estudios han revelado igualmente que en estas células aumentan la masa de las células  $\beta$ -pancreáticas y la síntesis de insulina (Kim et al., 2005; Buteau et al., 2008). El péptido GLP-1 inhibe además la secreción de glucagón, una hormona hiperglucemiante (Heller et al., 1997).

35 Contrariamente al péptido GIP, la hormona GLP-1 conserva este efecto insulínico en pacientes afectados de diabetes tipo 2. Por tanto presenta un gran valor terapéutico en el tratamiento de esta patología, sobre todo porque el efecto insulínico es dependiente de la glucosa y porque los riesgos de hipoglucemia asociada a la administración de GLP-1, incluso en dosis altas, son en este caso limitados. Se han desarrollado análogos de GLP-1 resistentes a la DPP-IV, tales como la exenatida o la liraglutida, que se usan actualmente en el tratamiento de la diabetes.

45 Las hormonas incretinas también actúan sobre el hipotálamo, el tracto gastrointestinal y el sistema cardiovascular (Zhao et al., 2006). En particular, retardan el vaciado gástrico y ayudan a reducir la cantidad de alimento ingerido por el sujeto contribuyendo a la aparición de una sensación de saciedad (Gutzwiller et al., 1999). El péptido GIP tiene además efectos específicos sobre el tejido adiposo y parece mejorar la utilización de los lípidos absorbidos (Yip and Wolfe, 2000). Por tanto, podría considerarse la posibilidad de utilizar estas hormonas en el tratamiento de la obesidad (Neff and Kushner, 2010).

50 Los inventores han demostrado ahora que las incretinas podrían tener un efecto terapéutico en el marco de cualquier otra patología: la artrosis. En efecto han demostrado que la presencia de péptido GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 3), GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4) o GIP (SEQ ID NO: 6) en los medios de cultivo de condrocitos y osteoblastos permite inhibir la sobreexpresión por estas células de varias metaloproteasas (MMP-3, MMP-9 y MMP-13) en respuesta a un tratamiento con la citoquina IL-1 $\beta$  que es un mediador principal en la destrucción artrósica del cartílago. 55 Igualmente han demostrado que estos péptidos inhiben la liberación de la prostaglandina pro-inflamatoria E2 (PGE2), otro mediador prodegradante, por los condrocitos en respuesta a IL-1 $\beta$ .

Los inventores han demostrado así la acción inhibitoria directa de las hormonas incretinas GLP-1 y GIP sobre varios factores implicados en la destrucción del cartilago en el proceso artrósico. El uso de estas hormonas, o sus análogos, representa por tanto una nueva estrategia de tratamiento de la artrosis. Esta estrategia es especialmente ventajosa porque varios análogos de GLP-1 ya han demostrado su inocuidad y han sido aprobados por las autoridades sanitarias.

Así, la presente invención se refiere a un péptido seleccionado del grupo que consiste en el péptido GLP-1, el péptido GIP y sus análogos que resisten a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV), para uso en el tratamiento de la artrosis.

En la presente memoria, los términos "péptido", "oligopéptido", "polipéptido" o "proteína" se utilizan indistintamente y se refieren a una cadena de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, independientemente del número de residuos de aminoácidos que constituyan esta cadena.

Según un modo de realización, el péptido utilizado de acuerdo con la invención se selecciona del grupo que consiste en péptido GLP-1 y péptido GIP. Los péptidos GLP-1 o GIP se pueden administrar en una forma madura o en forma de un precursor. El péptido GLP-1 se puede administrar por tanto en forma de un precursor proteínico: el pre-proglucagón (SEQ ID NO: 1) o el precursor GLP-1 (1-37) (SEQ ID NO: 2), o en una forma activa: el péptido GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 3) o el péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4). Igualmente, el péptido GIP se puede administrar en forma de su precursor (SEQ ID NO: 5) o en su forma activa GIP (1-42) (SEQ ID NO: 6). Según un modo de realización particular, el péptido utilizado de acuerdo con la invención comprende, o consiste en, una secuencia seleccionada del grupo constituido por las secuencias SEQ ID NO: 1 a 6. Según un modo de realización preferido, el péptido se selecciona entre las formas activas de GLP-1 o GIP, es decir del grupo constituido por los péptidos de secuencia SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 6. Preferiblemente, el péptido es el péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4).

Después de la administración, los péptidos GLP-1 y GIP son rápidamente inactivados por la enzima dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV) que escinde los dos aminoácidos N-terminales. Por tanto, el tiempo de semivida del péptido GLP-1 o GIP administrado por vía intravenosa es de aproximadamente 2 minutos. Por tanto estos péptidos o sus precursores se administran preferiblemente de forma continua, por ejemplo por medio de una perfusión subcutánea continua. Por tanto, según un modo de realización particular, el péptido utilizado según la invención es un péptido GLP-1 o GIP o uno de sus precursores, preferiblemente un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptido GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 3), péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4) y el péptido GIP (SEQ ID NO: 6), más preferiblemente el péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4), y el péptido se administra al paciente que se va a tratar de manera continua, preferiblemente por medio de una perfusión subcutánea continua.

Según otro modo de realización, el péptido es un análogo del péptido GLP-1 o GIP, preferiblemente un análogo resistente a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV). Estos análogos, también llamados incretinomiméticos, son agonistas del receptor GLP-1 o del receptor GIP que imitan la acción de las incretinas, pero presentan propiedades mejoradas con respecto al péptido GLP-1 o GIP, tales como una mayor resistencia a la DPP-IV y por lo tanto un tiempo de semivida en circulación prolongada.

Las modificaciones de los péptidos GLP-1 y GIP pueden ser diversas. Por ejemplo, uno o varios aminoácidos de configuración L pueden ser sustituidos por aminoácidos de configuración D. El péptido puede experimentar una modificación post-traducciona l y/o una modificación química adicional, en particular, una glucosilación, una amidación, una acilación, una acetilación o una metilación. También se pueden añadir grupos protectores a los extremos C y/o N. Por ejemplo, el grupo protector en el extremo N puede haber experimentado una acilación o una acetilación y el grupo protector en el extremo C puede haber experimentado una amidación o una esterificación. El péptido de la invención puede comprender igualmente enlaces pseudo-peptídicos que sustituyen los enlaces peptídicos "clásicos" CONH y que confieren una mayor resistencia a las peptidasas, tales como CHOH-CH<sub>2</sub>, NHCO, CH<sub>2</sub>-O, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, CO-CH<sub>2</sub>, N-N, CH=CH, CH<sub>2</sub>NH y CH<sub>2</sub>-S. Igualmente pueden ser sustituidos uno o varios aminoácidos por aminoácidos raros, principalmente hidroxiprolina, hidroxilisina, alohidroxilisina, 6-N-metilisina, N-etilglicina, N-metilglicina, N-etilasparagina, alo-isoleucina, N-metilisoleucina, N-metilvalina, piroglutamina, ácido aminobutírico; o por aminoácidos sintéticos, principalmente ornitina, norleucina, norvalina y ciclohexil-alanina. La invención también abarca el uso de análogos obtenidos sometiendo el péptido GLP-1 o GIP a sustituciones conservadoras. El término "sustitución conservadora", como se usa en la presente memoria, se refiere a una sustitución de un residuo de aminoácido por otro que presenta propiedades químicas o físicas similares (tamaño, carga o polaridad). Por ejemplo, la isoleucina, la leucina, la alanina, la valina, la fenilalanina, la prolina y la glicina pueden sustituirse mutuamente de forma conservadora, del mismo modo que la lisina, la histidina y la arginina o la serina, la tirosina y la treonina o la cisteína y la metionina o la asparagina, la glutamina y el triptófano o el ácido aspártico y el ácido glutámico.

Los análogos de los péptidos GLP-1 y GIP pueden presentar un grado de homología mayor o menor con ellos. Por ejemplo, la liraglutida, un análogo de GLP-1 presenta un 97% de homología con el péptido GLP-1 humano mientras que la exendina-4, otro análogo de GLP-1 obtenido a partir del veneno de lagarto, no presenta más que un 53% de homología. Sin embargo, preferiblemente, el péptido es un análogo del péptido GLP-1 o GIP resistente a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV) que presenta al menos un 50% de homología con el péptido GLP-1 humano, preferiblemente al menos un 60, 70, 80, 90 o 95% de homología con la SEQ ID NO: 3 o 4.

Han sido descritos numerosos análogos de GLP-1 y GIP resistentes a la DPP-IV y proceden de diferentes estrategias destinadas a mejorar su resistencia y aumentar su tiempo de semivida para disminuir su frecuencia de administración.

5 Los análogos del péptido GLP-1 resistentes a la DPP-IV se pueden obtener principalmente: (a) efectuando sustituciones selectivas de aminoácidos (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. 5.545.618), por ejemplo sustituyendo el segundo aminoácido N-terminal, una L-alanina, por una D-alanina o una serina, (b) uniendo sustituyentes lipófilos a las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos del péptido GLP-1 (véase, por ejemplo, la patente europea EP 0944648), (c) identificando compuestos insulínótropicos y analizando su capacidad como agonistas del receptor del GLP-1 humano (por ejemplo, las exendinas 3 y 4 aisladas inicialmente del veneno de lagarto), (d) acetilando el péptido GLP-1 o uno de sus análogos, como se ha hecho para la liraglutida en la que un grupo palmitoilo en C-16 está unido a una lisina de un péptido GLP-1 modificado, (e) uniendo covalentemente una proteína plasmática, preferiblemente la albúmina, a un péptido GLP-1 (por ejemplo, albugón (GlaxoSmithKline), CJC-1131 (ConjuChem) o CJC-1134, un análogo de la exendina-4 unido covalentemente a una albúmina humana (ConjuChem)), (f) atrapando los péptidos GLP-1 en polímeros biodegradables o (g) conjugando el péptido GLP-1 (o uno de sus análogos) con un polietilenglicol (por ejemplo LY315902, LY2199265 y LY2428757 (Eli Lilly)). Análogos de GLP-1 han sido descritos en numerosas solicitudes de patentes, tales como EE.UU. 2011/0281797, WO 2011/134284 o EE.UU. 2011/0166321.

20 El péptido GIP también puede ser modificado para aumentar su resistencia a la DPP-IV, por ejemplo modificando la tirosina N-terminal (O'Harte, et al., 1999), sustituyendo el segundo aminoácidos N-terminal, una L-alanina, por una D-alanina o una serina (Hinke, et al., 2002), mutando el ácido glutámico en la posición 3 de la secuencia SEQ ID NO: 6 (Gault, et al., 2003), o la alanina en la posición 13 de la secuencia SEQ ID NO: 6 (Gault, et al., 2003b). Igualmente ha sido descrito un análogo truncado de GIP, el análogo D-Ala<sup>2</sup>-GIP (1-30) en el que la L-alanina en la segunda posición N-terminal ha sido sustituida por una D-alanina (Widenmaier et al., 2010). Análogos del péptido GIP que presentan una mayor resistencia a la DPP-IV han sido descritos en numerosos documentos de patentes, tales como por ejemplo en las solicitudes de patentes internacionales WO 00/58360, WO 98/24464, WO 03/082898 y WO 2010/016944 así como en la patente europea EP 0479210.

30 Según un modo de realización particular, el péptido utilizado de acuerdo con la invención es un análogo del péptido GLP-1 resistente a la dipeptidil-peptidasa IV, preferiblemente seleccionado del grupo constituido por exenatida (Amylin Pharmaceuticals), exendina-4, liraglutida (Novo Nordisk), albiglutida (o albugón) (GlaxoSmithKline), tasoglutida (Ipsen/Roche), lixisenatida (Sanofi), LY315902 (Eli Lilly), dulaglutida (LY2189265) (Eli Lilly), LY2199265 (Eli Lilly), LY2428757 (Eli Lilly), semaglutida NN9535 (Novo Nordisk), CJC-1131 (ConjuChem), CJC-1134 (ConjuChem) y ZP10 (Aventis/Zealand Pharma). Más particularmente preferido, el péptido es un análogo seleccionado del grupo que consiste en exenatida y liraglutida.

35 La invención abarca igualmente el uso de sales farmacéuticamente aceptables de un péptido utilizado de acuerdo con la invención. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden ser, por ejemplo, sales con ácidos minerales farmacéuticamente aceptables, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico; sales con ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables, tales como ácido acético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido málico, ácido succínico, ácido ascórbico y ácido tartárico; sales con bases minerales farmacéuticamente aceptables, tales como sales de sodio, potasio, calcio, magnesio o amonio; o sales con bases orgánicas que tienen un átomo de nitrógeno formador de sales, utilizadas habitualmente en la técnica farmacéutica. Los métodos de preparación de estas sales son bien conocidos por los expertos en la técnica.

45 El péptido de acuerdo con la invención se puede obtener por síntesis química convencional (en fase sólida o en fase líquida homogénea) o por síntesis enzimática. También se puede obtener por el método que consiste en cultivar una célula hospedante que comprende un transgén que codifica el péptido y que expresa dicho péptido, y en extraer dicho péptido a partir de estas células hospedantes o del medio de cultivo en el que se segregó el péptido.

El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede utilizar solo o en combinación con uno u otros varios péptidos usados de acuerdo con la invención. Los péptidos se pueden administrar simultánea o secuencialmente.

50 El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede utilizar como el único ingrediente activo o en combinación con una u otras varias sustancias activas. El péptido y dicha o dichas sustancias activas se pueden administrar simultánea o secuencialmente.

55 En particular, el péptido se puede utilizar en combinación con uno o varios inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV. Según un modo de realización, el péptido se utiliza en combinación con uno o varios inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV seleccionados del grupo constituido por sitagliptina, saxagliptina, vildagliptina, alogliptina y linagliptina. Según un modo particular de realización, el péptido utilizado en combinación con uno o varios inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV es un péptido GLP-1 o GIP, o uno de sus precursores, en particular un péptido que comprende o consiste en, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias SEQ ID NO: 1 a 6. Preferiblemente, el péptido se selecciona del grupo que consiste en péptido GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO:

3), péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4) y péptido GIP (SEQ ID NO: 6), y más particularmente preferido el péptido es péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4).

El péptido se puede utilizar igualmente en combinación con una o varias sustancias utilizadas en el tratamiento de la artrosis, en particular analgésicos, tales como paracetamol; anti-inflamatorios no esteroideos, tales como ácido acetilsalicílico, acetilsalicilato de lisina, fenilbutazona, sulindaco, diclofenaco potásico o sódico, aceclofenaco, ácido tiaprofénico, ibuprofeno, ketoprofeno, alminoprofeno, fenoprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, indometacina, ácido mefenámico, ácido niflúmico, tenoxicam, meloxicam, piroxicam y los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2, tales como celecoxib y etoricoxib; anti-inflamatorios esteroideos, tales como betametasona, dexametasona, prednisolona, prednisona, tixocortol o triamcinolona; o antiartrósicos de acción lenta, tales como los medicamentos que comprenden condroitina, sulfato de condroitina (Structum, Chondrosulf), glucosamina o sulfato de glucosamina, diacereína (Art 50, Zondar) o extractos insaponificables de aguacate y de soja (piascledine).

El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede administrar igualmente en asociación con tratamientos locales, tales como corticoterapia intra o peri-articular, viscosuplementación, lavado de las articulaciones; tratamientos quirúrgicos de relajación o protésicos; o la utilización de aparatos ortopédicos.

El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede administrar igualmente en forma de un ácido nucleico que codifica dicho péptido. Tal como se utiliza en la presente memoria, se entiende por "ácido nucleico" cualquier molécula a base de ADN o ARN. Se puede tratar de moléculas sintéticas o semi-sintéticas, recombinantes, eventualmente amplificadas o clonadas en vectores, modificadas químicamente, que comprenden bases no naturales o nucleótidos modificados que comprenden, por ejemplo, un enlace modificado, una base púrica o pirimidínica modificada o un azúcar modificado. El ácido nucleico puede estar en forma de ADN y/o ARN, monocatenario o bicatenario. Según un modo de realización preferido, el ácido nucleico es una molécula de ADN aislada, sintetizada por técnicas recombinantes muy conocidas por los expertos en la técnica. El ácido nucleico se puede deducir de la secuencia del péptido utilizado de acuerdo con la invención y el uso de codones se puede adaptar a la célula hospedante en la que el ácido nucleico debe ser transcrito. Estas etapas se pueden realizar de acuerdo con métodos bien conocidos por los expertos en la técnica y algunos de los cuales están descritos en el manual de referencia de Sambrook et al., (Sambrook et al., 2001). Preferiblemente, el vehículo utilizado para administrar el ácido nucleico lo protege de una eventual degradación que pueda perjudicar su eficacia. Entre los vehículos utilizables, se pueden citar principalmente polímeros catiónicos naturales, tales como quitosano o atelocolágeno, o sintéticos, tales como poli(L-lisina), polietiliminina (PEI) o dendrímeros, que forman complejos con los ácidos nucleicos; liposomas; liposomas catiónicos; liposomas galactosilatados; liposomas recubiertos de un ligando que les permite dirigirse a un tipo de células, tales como inmunoliposomas recubiertos con un anticuerpo específico para la célula diana (Zheng et al., 2009); liposomas dispuestos en el seno de una nanopartícula formada por polímeros (Carmona et al., 2009) o incluso películas multicapas de policationes y polianiones.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "tratamiento" o "terapia" se refiere a cualquier acto que permita disminuir, suprimir o retardar los síntomas asociados a una patología. Comprende tanto un tratamiento curativo como un tratamiento profiláctico de una enfermedad. Un tratamiento curativo se define como un tratamiento que lleva a una curación o un tratamiento que atenúa, mejora y/o elimina, reduce y/o estabiliza los síntomas de una enfermedad o el sufrimiento que provoca. Un tratamiento profiláctico comprende tanto un tratamiento que lleva a la prevención de una enfermedad como a un tratamiento que reduce y/o retarda la incidencia de una enfermedad o el riesgo de que se produzca. En particular, en el marco de la presente invención, el término "tratamiento" se refiere más particularmente a la inhibición o ralentización de la destrucción del cartílago artrósico observada por el estrechamiento del espacio articular en las radiografías estándares.

El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede utilizar en el tratamiento de una artrosis primaria (sin causa anatómica o traumática) o secundaria. La artrosis tratada puede afectar cualquier articulación, principalmente las articulaciones de cadera (coxartrosis), rodilla (gonartrosis), tobillo, pie, mano, muñeca, codo, hombro o columna vertebral, preferiblemente las articulaciones de la cadera, rodilla, mano y columna vertebral.

El sujeto a tratar, o paciente, es un animal, preferiblemente un mamífero. Según un modo de realización, el sujeto a tratar es un animal seleccionado del grupo que consiste en un perro, un gato, un caballo, una vaca, una oveja, un cerdo y un primate no humano. Según un modo de realización preferido, el sujeto a tratar es un ser humano, preferiblemente un adulto, y más particularmente preferido, un adulto mayor de 50 años.

Según un modo particular de realización, el sujeto a tratar no presenta diabetes de tipo II. Preferiblemente, este paciente tiene una glucemia en ayunas inferior a 1,26 g/L.

Según otro modo particular de realización, el sujeto a tratar no presenta obesidad. El índice de masa corporal (o IMC, masa/(altura)<sup>2</sup>) permite estimar la corpulencia de una persona. De acuerdo con la clasificación de la OMS, una corpulencia media corresponde a un IMC de 18,5 a 25, una persona con sobrepeso tiene un IMC de 25 a 30 y una persona obesa tiene un IMC superior a 30. Preferiblemente, el sujeto a tratar tiene un índice de masa corporal inferior a 30, más particularmente preferido, inferior a 27, e incluso más particularmente preferido inferior a 25.

Incluso según otro modo de realización, el sujeto a tratar tiene una glucemia en ayunas inferior a 1,26 g/L y un índice de masa corporal inferior a 30, preferiblemente inferior a 27 y más particularmente preferido inferior a 25.

5 El péptido utilizado de acuerdo con la invención se administra al paciente en forma de una composición farmacéutica que comprende al menos un péptido utilizado de acuerdo con la invención y un vehículo y/o excipiente farmacéu-  
ticamente aceptable. El péptido utilizado de acuerdo con la invención también se puede administrar al paciente en  
10 forma de una composición farmacéutica que comprenda al menos un ácido nucleico que codifica un péptido usado de acuerdo con la invención y un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición puede com-  
prender además una u otras varias sustancias activas tales como se han definido anteriormente. Principalmente,  
15 puede comprender uno o varios inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV, seleccionados preferiblemente del grupo que consiste en sitagliptina, saxagliptina, vildagliptina, alogliptina y linagliptina u otras sustancias, tales como  
20 analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos, anti-inflamatorios esteroideos y antiartrósicos de acción lenta.

Los excipientes y vehículos farmacéuticamente aceptables susceptibles de ser utilizados son bien conocidos por los  
expertos en la técnica (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A.R. Gennaro, Ed., Mack Publishing  
Company [1990]; Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins, S. Frokjaer and L. Hovgaard,  
15 Eds., Taylor & Francis [2000]; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd edition, A. Kibbe, Ed., Pharmaceutical  
Press, [2000]). La composición farmacéutica que comprende el péptido utilizado de acuerdo con la invención puede  
estar en forma de comprimidos, cápsulas, cápsulas de gelatina, granulados, suspensiones, emulsiones, soluciones,  
20 polímeros, nanopartículas, microesferas, supositorios, enemas, geles, pastas, ungüentos, cremas, emplastos, pocio-  
nes, inyectables, implantes, pulverizaciones o aerosoles. Preferiblemente, la composición farmacéutica que com-  
prende el péptido usado de acuerdo con la invención está en forma de una composición inyectable.

El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede administrar por cualquier vía de administración conocida,  
incluyendo principalmente las vías sistémicas (parenteral, intravenosa, ...), oral, rectal, tópica o subcutánea. Según  
un modo de realización preferido, el péptido utilizado de acuerdo con la invención se administra por vía oral, subcu-  
25 tánea o intravenosa, preferiblemente por vía subcutánea o intravenosa, y de manera más particularmente preferida  
por vía subcutánea. El péptido se puede administrar igualmente por inyección intra-articular, preferiblemente en la  
articulación artrósica. En este caso, se puede administrar en combinación con otras sustancias de acción local, tales  
como el ácido hialurónico, o sustancias analgésicas.

El péptido utilizado de acuerdo con la invención se administra al paciente en una dosis terapéuticamente eficaz. El  
término "dosis terapéuticamente eficaz", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a la cantidad neces-  
30 aria para observar una actividad terapéutica o preventiva sobre la artrosis, en particular la cantidad necesaria para  
observar una inhibición o una ralentización de la destrucción del cartilago artrósico. La cantidad de péptido que se ha  
de administrar así como la duración del tratamiento son evaluadas por el experto en la técnica según el estado fisi-  
ológico del sujeto a tratar, la naturaleza de la o las articulaciones artrósicas a tratar, el péptido elegido así como la vía  
35 de administración usada. El péptido utilizado de acuerdo con la invención se puede administrar como una dosis úni-  
ca o como dosis múltiples.

Según un modo de realización, el péptido es un péptido GLP-1 o un péptido GIP, o uno de sus precursores, y se  
administra de forma continua, preferiblemente por medio de una perfusión subcutánea continua. Según otro modo de  
realización, el péptido es un análogo del péptido GLP-1 o del péptido GIP resistente a la DPP-IV como se ha definido  
40 anteriormente y se administra por inyección subcutánea una a dos veces al día. En el caso en el que el péptido se  
administre en una forma farmacéutica para liberación prolongada (por ejemplo, una forma inyectable de liberación  
prolongada de exenatida, Le Bydureon™), el péptido se puede administrar más espaciadamente, por ejemplo una  
vez a la semana.

El péptido, preferiblemente un análogo del péptido GLP-1 o del péptido GIP resistente a la DPP-IV, tal como se ha  
definido anteriormente, o un ácido nucleico que codifica dicho péptido, se puede administrar igualmente por inyec-  
45 ción intra-articular, en particular a razón de una a tres inyecciones por trimestre.

La dosis que se ha de administrar dependerá de la naturaleza del péptido utilizado, de la vía de administración así  
como de la frecuencia de las administraciones.

Según un modo de realización, el péptido se administra al paciente en forma de una composición farmacéutica que  
comprende entre 1 µg y 10 mg de péptido por unidad de dosis, preferiblemente por vía oral, subcutánea o intraveno-  
50 sa.

Según un modo de realización, el péptido se administra al paciente por vía subcutánea en forma de una composición  
farmacéutica inyectable que comprende entre 5 µg y 5 mg de péptido por unidad de dosis. Según otro modo de rea-  
lización, el péptido se administra al paciente por vía subcutánea en forma de una composición farmacéutica inyecta-  
ble que comprende entre 50 ng y 20 µg de péptido por kilogramo de peso corporal por unidad de dosis.

55 La presente invención se refiere también al uso de un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptido GLP-  
1, péptido GIP y sus análogos resistentes a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV) para la fabricación de un medicamen-  
to destinado al tratamiento de la artrosis.

La presente invención se refiere además a un método de tratamiento de la artrosis en un paciente, comprendiendo dicho método la administración a dicho paciente de una dosis terapéuticamente eficaz de un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptido GLP-1, péptido GIP y sus análogos resistentes a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV).

- 5 Otras características y ventajas de la invención surgirán mejor con la lectura de los siguientes ejemplos dados a título ilustrativo y no limitativo.

## EJEMPLOS

### Materiales y Métodos

#### *Cultivo primario de condrocitos*

- 10 Los condrocitos de múridos se obtuvieron después de digestión enzimática de cabezas femorales y rodillas de ratoncillos de 4 a 6 días. Las células se amplificaron en una monocapa durante 1 semana (Gosset et al., 2008).

#### *Cultivo primario de osteoblastos*

- 15 Los osteoblastos de múridos se obtuvieron después de digestión enzimática de cráneos de ratoncillos de 4 a 6 días. Las células se amplificaron durante 3 semanas, en presencia de ácido ascórbico y  $\beta$ -glicerofosfato. Los osteoblastos al final del cultivo forman una membrana tridimensional (Sánchez et al., 2009).

#### *Tratamiento de los cultivos primarios*

Los cultivos se realizaron en un medio de cultivo sin suero durante 24 horas antes del tratamiento. Los condrocitos o los osteoblastos se trataron a continuación con 0,1 o 1 ng/mL de IL-1 $\beta$  durante 24 horas, en presencia o ausencia de GLP-1 (7-36)-amida (10 nM), GIP (10 nM) o GLP-1 (7-37) (10 nM) (Bachem).

- 20 *Análisis de la expresión génica*

Se extrajeron los ARN usando el RNeasy Mini kit (Qiagen) y luego se retrotranscribieron utilizando el kit Omniscript (Qiagen). Los niveles de expresión de los genes de interés se cuantificaron por PCR en tiempo real (Light Cycler LC480), con relación al gen de referencia HPRT, usando los cebadores siguientes:

HPRT- antisentido: ATT CAA ATC CCT GAA GTA CTC AT (SEQ ID No: 7)

HPRT- sentido: AGG ACC TCT CGA AGT GT (SEQ ID No: 8)

GLP1R- antisentido: CAG TCG GCA GCC TAG AGA GT (SEQ ID No: 9)

GLP1R- sentido: CTG CCC AGC AAC ACC AGT (SEQ ID No: 10)

MMP3- sentido: TG AAA ATG AAG GGT CTT CCG G (SEQ ID No: 11)

MMP3- antisentido: GCA GAA GCT CCA TAC CAG CA (SEQ ID No: 12)

MMP9- sentido: AAC TAC GGT CGC GTC CAC T (SEQ ID No: 13)

MMP9- antisentido: CCA CAG CCA ACT ATG ACC AG (SEQ ID No: 14)

MMP13- sentido: TGA TGG CAC TGC TGA CAT CAT (SEQ ID No: 15)

MMP13- antisentido: TGT AGC CTT TGG AAC TGC TT (SEQ ID No: 16)

- 25 *Detección de la MMP-13 liberada por transferencia de Western*

La cantidad de MMP-13 producida por las células se midió por transferencia de Western (SDS-PAGE y transferencia sobre membrana de nitrocelulosa) a partir de los líquidos sobrenadantes de cultivo. La proteína MMP-13 se detectó con el anticuerpo primario policlonal anti-MMP-13 (Santacruz) y un anticuerpo secundario acoplado a HRP. El revelado se realizó utilizando un kit Western C (BioRad) y la captura de imagen con un dispositivo *Fujifilm Image Reader* (Fuji).

30

#### *Detección de PGE2 liberada por EIA*

La cantidad de PGE2 producida por las células se midió usando el *Prostaglandin E2 EIA Kit - Monoclonal* (Cayman) a partir de los líquidos sobrenadantes de cultivo.

## Resultados

*Expresión del receptor específico de GLP-1*

5 El receptor específico de GLP-1 (GLP-1R) es expresado *in vitro* por los condrocitos y los osteoblastos primarios de múridos. Los ARNm que codifican GLP-1R fueron detectados por RT-PCR en lisados celulares de condrocitos y osteoblastos en estado basal. Estos resultados indican que tanto los condrocitos como los osteoblastos expresan este receptor en su superficie y por tanto son potencialmente sensibles a los efectos de ligandos del tipo GLP-1.

*Inhibición de la expresión de las enzimas pro-degradantes MMP-3, MMP-9 y MMP-13 en los condrocitos*

La adición de GLP-1 (7-36)-amida, GIP o GLP-1 (7-37) inhibe la sobreexpresión de las enzimas pro-degradantes MMP-3, MMP-9 y/o MMP-13 observadas en los condrocitos en respuesta a un tratamiento con IL-1 $\beta$  (Figura 1). Los péptidos recombinantes solos no inducen la sobreexpresión de las enzimas pro-degradantes.

10 *Inhibición de la expresión de las enzimas pro-degradantes MMP-3, MMP-9 y MMP-13 en los osteoblastos*

La adición de GLP-1 (7-36)-amida, GLP-1 (7-37) o GIP inhibe la sobreexpresión de las enzimas pro-degradantes MMP-3 y MMP-13 observadas en los osteoblastos en respuesta a un tratamiento con IL-1 $\beta$  (Fig. 2A, B y C). La adición de GLP-1 (7-36)-amida inhibe además la sobreexpresión de MMP-9 (Fig. 2D). Los péptidos recombinantes solos no inducen la sobreexpresión de las enzimas pro-degradantes.

15 *Inhibición de la liberación de la prostaglandina E2 por los condrocitos*

La adición de GLP-1 (7-36)-amida inhibe la liberación de la prostaglandina E2 (PGE2), un mediador lipídico pro-inflamatorio, por los condrocitos observada en respuesta a un tratamiento con IL-1 $\beta$  (Figura 3). Este péptido recombinante solo no induce la liberación de PGE2.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanc et al. Osteoarthritis Cartilage 1999; 7: 308-9.
- Buteau J. Diabetes Metab 2008;34(Suppl. 2):S73-7.
- Carmona et al., Mol Pharm. 2009 Jan 21
- Deacon CF. Regul Pept 2005;128:117-24.
- Fosang y Little, 2008, August, Nature Reviews Rheumatology 4, 420-427
- Gault, et al, 2003, Biochem. Biophys. Res. Commun., 308:207-213
- Gault, et al, 2003b, Cell Biol. International, 27:41-46
- Goldring et al. Ann Rheum Dis. 2008; 67 Suppl 3:iii75-82.
- Gosset et al. Nat Protoc. 2008;3(8):1253-60
- Gutzwiller et al. Gut 1999;44:81-6.
- Hardy et al. Arthritis Rheum 2002; 46: 1789-1803.
- Hashimoto et al. Arthritis Rheum 1998; 41: 1632-8.
- Hinke, et al, 2002, Diabetes, 51:656-661
- Heller et al. Diabetes 1997;46:785-91
- Kim et al. J Biol Chem 2005;280:22297-307
- Kreymann et al. Lancet 1987;2:1300-4.
- Krzeski et al., Arthritis Res Ther 2007, 9; R109
- Little et al. Matrix Biol 2002;21:271-88.
- Miwa et al. Osteoarthritis Cartilage. 2000 Jan;8(1):17-24.
- Nagase et al. J Biol Chem 1999;274:21491-4.
- Neff y Kushner, Diabetes Metab Syndr Obes. 2010; 3: 263-273
- O'Harte, et al, Diabetes. 1999 Apr;48(4):758-65.
- Orskov et al. Diabetes 1993;42:658-61.
- Rannou et al. Revue du Rhumatisme 2005; 72 ; 322 - 330
- Sambrook J, Russell D (2001) Molecular cloning: a laboratory manual, Third Edition Cold Spring Harbor
- Sanchez et al. Osteoarthritis Cartilage. 2009 Apr;17(4):473-81
- Sanchez et al. Arthritis Rheum. 2012 Apr;64(4):1193-203.
- Sellam : y Berenbaum, Nature Reviews Rheumatology 6, 625-635 (November 2010)
- Stove et al. Pathobiology 2001;69:333-8.
- Vahl et al. J Clin Endocrinol Metab. 2003 Apr;88(4):1772-9
- Widenmaier et al. PLoS ONE 2010; 5(3): e9590
- Yip y Wolfe. Life Sci 2000;66:91-103.
- Zheng et al., Blood. 2009 Mar 19;113(12):2646-54Zhao et al. J Pharmacol Exp Ther 2006;317:1106-13.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Université Pierre et Marie Curie (PARIS 6)

<120> Tratamiento de la artrosis por hormonas incretinas o sus análogos

5

<130> B1384PC

<160> 16

10 <170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 1

Met Lys Ser Ile Tyr Phe Val Ala Gly Leu Phe Val Met Leu Val Gln  
1 5 10 15

Gly Ser Trp Gln Arg Ser Leu Gln Asp Thr Glu Glu Lys Ser Arg Ser  
20 25 30

Phe Ser Ala Ser Gln Ala Asp Pro Leu Ser Asp Pro Asp Gln Met Asn  
35 40 45

Glu Asp Lys Arg His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys  
50 55 60

Tyr Leu Asp Ser Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn  
65 70 75 80

Thr Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala Lys Arg His Asp Glu Phe Glu  
85 90 95

Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu  
100 105 110

Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
115 120 125

Arg Arg Asp Phe Pro Glu Glu Val Ala Ile Val Glu Glu Leu Gly Arg  
130 135 140

Arg His Ala Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp  
145 150 155 160

Asn Leu Ala Ala Arg Asp Phe Ile Asn Trp Leu Ile Gln Thr Lys Ile  
165 170 175

Thr Asp Arg Lys  
180

20

ES 2 615 001 T3

<210> 2  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5  
 <400> 2  
 His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val  
 1 5 10 15  
  
 Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu  
 20 25 30  
  
 Val Lys Gly Arg Gly  
 35  
  
 <210> 3  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 10  
 <400> 3  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 15 20 25 30  
  
 <210> 4  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 20  
 <400> 4  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg  
 20 25 30  
  
 <210> 5  
 <211> 153  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 25  
 <400> 5  
 Met Val Ala Thr Lys Thr Phe Ala Leu Leu Leu Leu Ser Leu Phe Leu  
 1 5 10 15

ES 2 615 001 T3

Ala Val Gly Leu Gly Glu Lys Lys Glu Gly His Phe Ser Ala Leu Pro  
 20 25 30

Ser Leu Pro Val Gly Ser His Ala Lys Val Ser Ser Pro Gln Pro Arg  
 35 40 45

Gly Pro Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala  
 50 55 60

Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln  
 65 70 75 80

Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln Arg Glu Ala  
 85 90 95

Arg Ala Leu Glu Leu Ala Ser Gln Ala Asn Arg Lys Glu Glu Glu Ala  
 100 105 110

Val Glu Pro Gln Ser Ser Pro Ala Lys Asn Pro Ser Asp Glu Asp Leu  
 115 120 125

Leu Arg Asp Leu Leu Ile Gln Glu Leu Leu Ala Cys Leu Leu Asp Gln  
 130 135 140

Thr Asn Leu Cys Arg Leu Arg Ser Arg  
 145 150

<210> 6  
 <211> 42  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 6  
 Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
 1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
 20 25 30

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln  
 35 40

10 <210> 7  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

15 <220>  
 <223> cebador antisentido HPRT

20 <400> 7  
 attcaaatcc ctgaagtact cat 23

<210> 8

<211> 17  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 5 <223> cebador sentido HPRT  
  
 <400> 8  
 aggacctctc gaagtgt 17  
  
 10 <210> 9  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 15 <220>  
 <223> cebador antisentido GLP1R  
  
 <400> 9  
 cagtcggcag cctagagagt 20  
 20  
 <210> 10  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 25  
 <220>  
 <223> cebador sentido GLP1R  
  
 <400> 10  
 30 ctgcccagca acaccagt 18  
  
 <210> 11  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 35 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> cebador sentido MMP-3  
  
 40 <400> 11  
 tgaaaatgaa ggtcttccg g 21  
  
 <210> 12  
 <211> 20  
 45 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> cebador antisentido MMP-3  
 50  
 <400> 12  
 gcagaagctc cataccagca 20  
  
 <210> 13  
 55 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 60 <223> cebador sentido MMP-9  
  
 <400> 13  
 aactacggtc ggtccact 19  
 65 <210> 14

<211> 20  
<212> ADN  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> cebador antisentido MMP-9

<400> 14  
ccacagccaa ctatgaccag 20

10 <210> 15  
<211> 21  
<212> ADN  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> cebador sentido MMP-13

<400> 15  
20 tgatgcact gctgacatca t 21

<210> 16  
<211> 20  
<212> ADN  
25 <213> Artificial

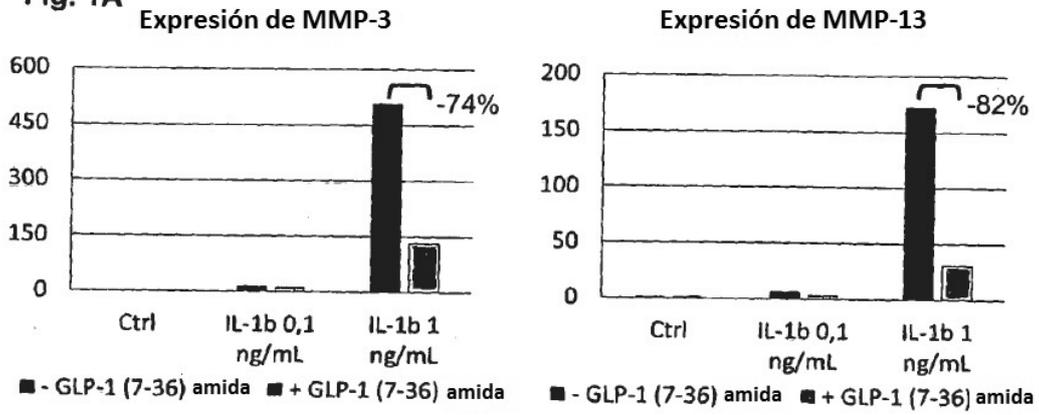
<220>  
<223> cebador antisentido MMP-13

30 <400> 16  
tgtagccttt ggaactgctt 20

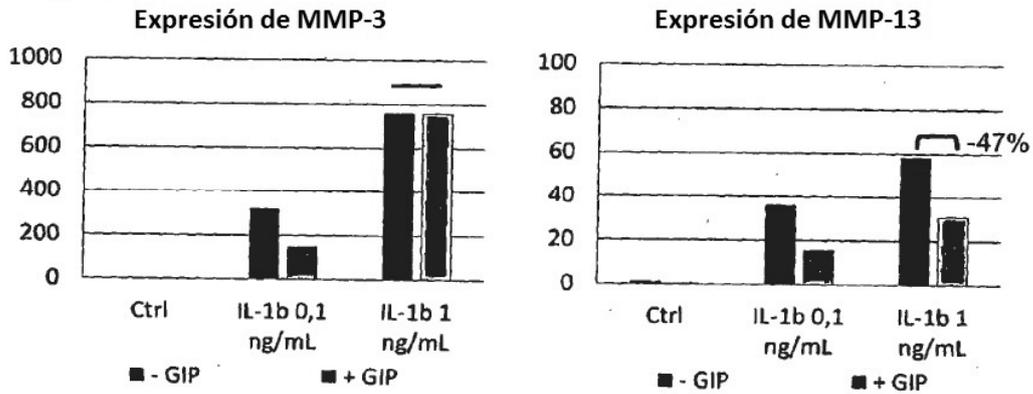
**REIVINDICACIONES**

1. Péptido seleccionado del grupo que consiste en péptido GLP-1, péptido GIP y sus análogos resistentes a la dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV), para uso en el tratamiento de la artrosis.
- 5 2. Péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias SEQ ID NO: 1 a 6.
3. Péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el péptido se selecciona del grupo que consiste en péptido GLP-1 (7-36)-amida (SEQ ID NO: 4) y péptido GLP-1 (7- 37) (SEQ ID NO: 3).
4. Péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el péptido es el péptido GIP (1-42) (SEQ ID NO: 6).
- 10 5. Péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido es un análogo del péptido GLP-1 o GIP resistente a la DPP-IV.
6. Péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido es un análogo del péptido GLP-1 resistente a la DPP-IV, preferiblemente un péptido seleccionado del grupo que consiste en exenatida, liraglutida, exendina-4, albiglutida, taspoglutida, lixisenatida, dulaglutida (LY2189265), LY315902, LY2199265, LY2428757, semaglutida (NN9535), CJC-1131, CJC-1134 y ZP10, y de manera más particularmente preferida un péptido seleccionado del grupo que consiste en exenatida y liraglutida.
- 15 7. Péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para uso en el tratamiento de la artrosis en combinación con una u otras varias sustancias activas.
8. Péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el péptido y dicha o dichas otras sustancias activas se administran simultánea o secuencialmente.
- 20 9. Péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en el que dicha o dichas otras sustancias activas son: (i) inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV, preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en sitagliptina, saxagliptina, vildagliptina, alogliptina y linagliptina, o (ii) seleccionadas del grupo que consiste en analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos, anti-inflamatorios esteroideos y antiartrósicos de acción lenta.
- 25 10. Péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el péptido se administra en asociación con tratamientos locales de la artrosis.
11. Péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el péptido se administra en forma de un ácido nucleico que codifica dicho péptido.
- 30 12. Péptido para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, destinado a ser administrado por vía oral, subcutánea, intravenosa o intra-articular.
13. Composición farmacéutica que comprende: (i) uno o varios péptidos tales como los definidos en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o (ii) uno o varios ácidos nucleicos que codifican uno o varios péptidos tales como los definidos en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de la artrosis.
- 35 14. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, comprendiendo dicha composición además una u otras varias sustancias activas, preferiblemente: (i) uno o varios inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa IV, preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en sitagliptina, saxagliptina, vildagliptina, alogliptina y linagliptina, o (ii) una u otras varias sustancias activas seleccionadas del grupo que consiste en analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos, anti-inflamatorios esteroideos y antiartrósicos de acción lenta.
- 40 15. Composición farmacéutica para uso en una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14, estando formulada dicha composición en forma de una composición ingerible o inyectable, preferiblemente en forma de una composición destinada a ser administrada por vía oral, subcutánea, intravenosa o intra-articular.

**Fig. 1A**



**Fig. 1B**



**Fig. 1C**

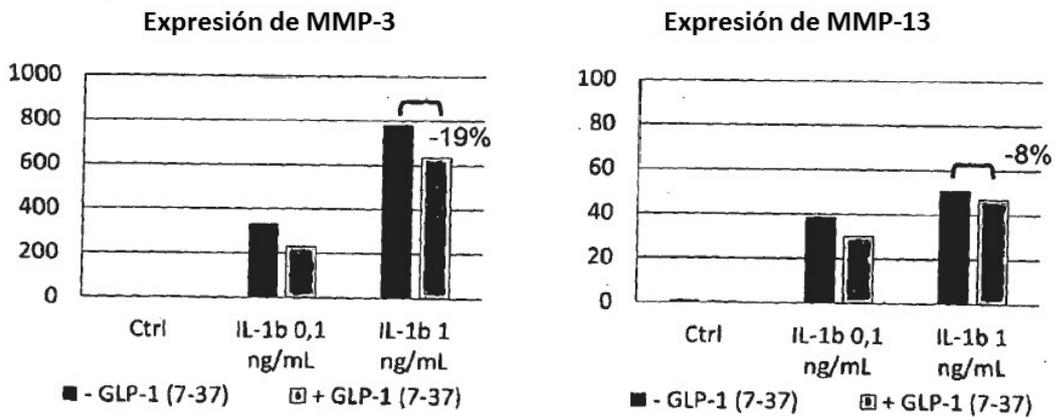
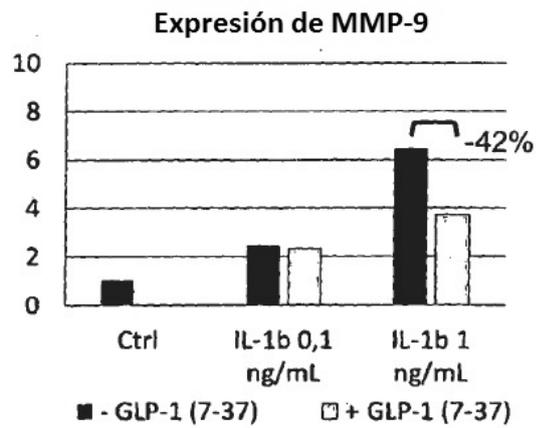
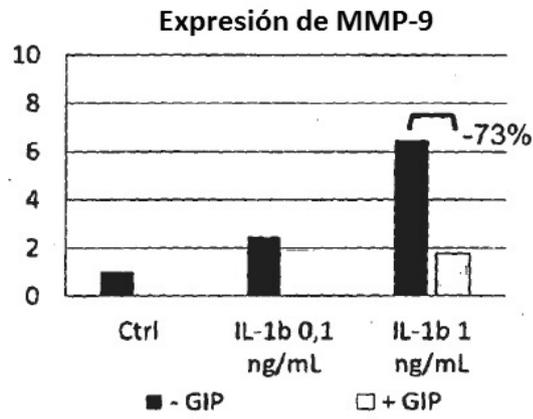
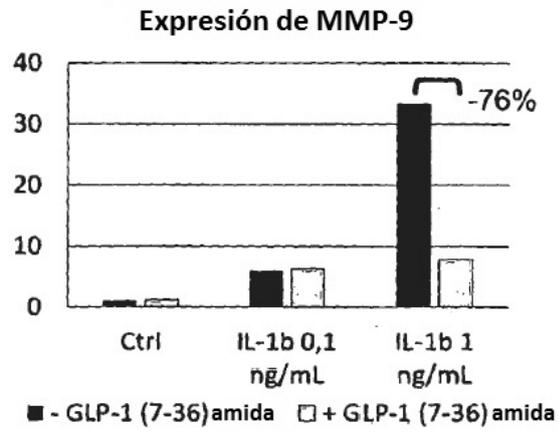
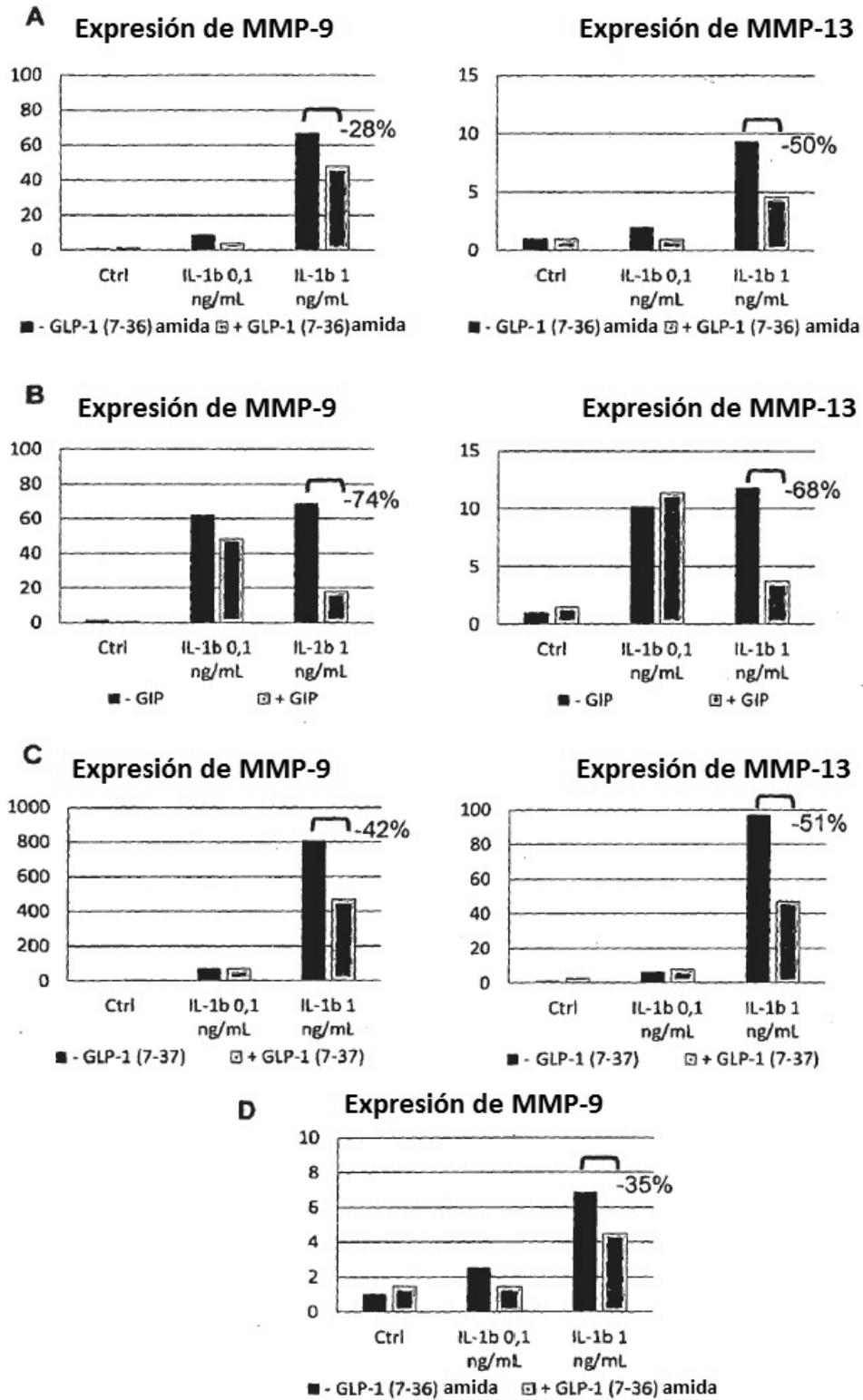
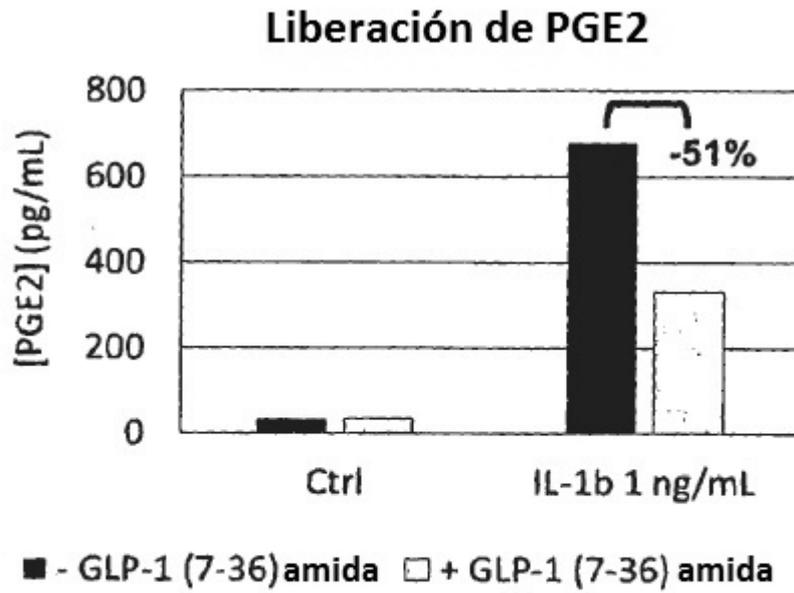


Fig. 1D





**Figura 2**



**FIGURA 3**