

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 923**

51 Int. Cl.:

C07C 53/00 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/366 (2006.01)
A61K 31/585 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2012 PCT/IB2012/002930**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO13088245**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2012 E 12856859 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019 EP 2791101**

54 Título: **Tratamiento de esteatohepatitis no alcohólica**

30 Prioridad:

12.12.2011 US 201161569545 P
12.12.2011 US 201161569481 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.05.2020

73 Titular/es:

VASCULAR BIOGENICS LTD. (100.0%)
8 Hasatat St.
Modiin 7178106, IL

72 Inventor/es:

MENDEL, ITZHAK;
FEIGE, EREZ;
YACOV, NIVA;
PROPHETA-MEIRAN, OSHRAT;
BREITBART, EYAL y
SALEM, YANIV

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 758 923 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 esteatohepatitis no alcohólica

Campo y antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere al compuesto 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio que es la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

Los fosfolípidos oxidados han sido descritos previamente como útiles en el tratamiento de afecciones médicas tales como, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares, enfermedades cerebrovasculares y enfermedades y trastornos inflamatorios.

10 La Solicitud de Patente Internacional nº PCT/IL2004/000453 (Publicación nº WO 04/106486) describe lípidos oxidados para la prevención y el tratamiento de la inflamación asociada a lípidos oxidados endógenos. Se describe un ejemplo de dichos compuestos y se conoce como CI-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina; también conocida en la técnica como VB-201).

La Solicitud de Patente Internacional nº PCT/IL01/01080 (Publicación nº WO 02/41827) describe lípidos oxidados para la prevención y el tratamiento de la aterosclerosis y enfermedades relacionadas.

15 La Solicitud de Patente Internacional nº PCT/IL2011/000012 (publicada como WO 2011/083469) describe nuevas formas de dosis unitarias, métodos y regímenes de tratamiento, que emplean VB-201 según se describe. La Solicitud de Patente Internacional PCT/IL2011/000012 describe además la inhibición por parte de VB-201 de la activación y quimiotaxis de receptores tipo Toll.

20 Otros antecedentes adicionales de la técnica incluyen las Solicitudes de Patente Internacional PCT/IL09/000949 (Publicación nº WO 10/041242), PCT/IL09/001049 (Publicación nº WO 10/052718), PCT/IL05/000735 (Publicación nº WO 06/006161), PCT/IL02/00005 (Publicación nº WO 02/053092) y PCT/IL08/000013 (Publicación nº WO 08/084472).

25 Los receptores tipo Toll (TLRs) son una familia de receptores imperativos para la respuesta inmune innata contra invasión microbiana. Los TLRs se pueden dividir en dos subgrupos principales en base a su localización celular. Los TLRs expresados en la membrana plasmática incluyen TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 y TLR6, mientras que los TLRs intracelulares incluyen TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9. La interacción entre los TLRs con sus agonistas cognados instiga una cascada de señales que incluyen el reclutamiento de moléculas adaptadoras MyD88/TRIF y la fosforilación de MAPK quinasas y NF-κB. Estos eventos culminan en la secreción de citocinas proinflamatorias, que incluyen IL-12/23, IL-6 y TNF-α. El TLR2 forma un heterodímero con el TLR1 que reconoce lipopéptidos triacilados bacterianos, y un heterodímero con TLR6 que reconoce lipopéptidos diacilados bacterianos. El TLR4 acoplado a MD2 en un complejo con proteína de unión a lipopolisacáridos (LBP) y el co-receptor CD14 se unen a lipopolisacáridos (LPS) de una bacteria gram negativa.

30

Los monocitos son elementos clave en el sistema inmune, con funciones críticas en la inmunidad innata y adaptativa, la vigilancia inmunológica y la captura de partículas. Aunque un subgrupo de monocitos es "residente" y se recluta en tejidos independientemente de estímulos inflamatorios para ayudar en la vigilancia de estado estacionario, la curación de heridas y la resolución de la inflamación, la mayoría absoluta (80-90 %) de los monocitos humanos en circulación se clasifica como "inflamatorios" [Kamei y Carman, *Curr Opin Hematol* 2010, 17: 43-52]. Estos monocitos pueden sentir los estímulos inflamatorios y migrar rápidamente a través del endotelio vascular o linfático hasta la periferia, donde pueden diferenciarse en macrófagos y células dendríticas (DCs) que cooperan con otros subgrupos celulares (tal como células Th1) para promover la inflamación. Aunque desempeñan una función necesaria en la defensa del hospedante, los monocitos fueron identificados no obstante como mediadores críticos de varias enfermedades inflamatorias, que incluyen aterosclerosis, artritis reumatoide (RA) y esclerosis múltiple (MS) [Zhao, *J Leukoc Biol.* 2010, 88: 41-55; Moore y Tabas, *Cell.* 2011, 145: 341-355; Mildner et al., *Brain.* 2009, 132 (Pt 9): 2487-2500]. La supresión de la acumulación de monocitos/macrófagos no deseados en un tejido inflamado crónicamente tiene potencial terapéutico, y los inhibidores de migración han demostrado acordemente resultados anti-inflamatorios prometedores en modelos de animales y en ensayos clínicos [Mackay, *Nat Immunol.* 2008, 9: 988-998].

45

Una investigación extensiva ha demostrado que los receptores de quimiocina y las moléculas de adhesión desempeñan un papel fundamental en la regulación del tráfico de leucocitos (revisado en Kamei y Carman [*Curr Opin Hematol* 2010; 17: 43-52] y en Imhof y Aurrand-Lions [*Nat Rev Immunol.* 2004, 4: 432-444]). Un conjunto complejo de receptores de quimiocinas, receptores acoplados a proteína G (GPCRs) que se expresan diferencialmente en linajes y subconjuntos de leucocitos, regula qué tipos celulares migrarán y a qué tejido, en condiciones diferentes. Las quimiocinas o citocinas quimiotácticas son proteínas secretadas que regulan la migración y la activación de leucocitos y células estromales. En el caso de monocitos inflamatorios, la salida desde la médula ósea a través de una monocapa de células endoteliales (es decir, la diapédesis) para entrar en el sistema circulatorio (es decir, la intravasación) y para migrar al tejido inflamado, depende de la señalización de receptor 2 de estructura C-C (CCR2), en respuesta a la activación por el ligando de estructura C-C (CCL) de quimiocina 2 (también conocido como proteína-1 quimiotáctica de monocito; MCP-1) y CCL7 (MCP-3). Por otro lado, la migración constitutiva de monocitos residentes a los tejidos no inflamados principalmente depende de CCL3 (también conocida como proteína-1α inflamatoria de macrófago; MIP-

55

1α) y el ligando de quimiocina (estructura C-X3-C) 1 (CX3CL1) [Kamei y Carman, *Curr Opin Hematol* 2010, 17: 43-52].

La aterosclerosis es un trastorno complejo que implica la retención de lípidos, la inflamación, el estrés oxidativo y la disfunción endotelial. Las respuestas inmunes celulares y humorales actúan para influir en el tamaño y la composición de la placa aterosclerótica. Los monocitos desempeñan un papel significativo en el inicio y la progresión de la aterosclerosis. Se pueden consultar evidencias de su función crítica en estudios de mutación G-CSF en ratones que eliminan la aterogénesis aórtica en el modelo ApoE bloqueado (KO) a pesar de los niveles elevados de lípidos [Smith et al., *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995, 92: 8264-8268; Qiao et al., *Am J Pathol*. 1997, 15: 1687-1699]. Las condiciones de aterosclerosis inducen un flujo rápido de monocitos inflamatorios a la pared del vaso, seguido de la diferenciación en macrófagos inflamatorios y DCs. Estas células, junto con los macrófagos residentes y las células dendríticas que sufren cambios fenotípicos, así como las células T de infiltración [Pinderski et al., *Circ Res*. 2002, 90: 1064-1071; Potteaux et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004, 24: 1474-1478], modulan el entorno inflamatorio dentro de la pared arterial [Ley et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011, 31: 1506-1516]. Los reguladores potentes del sistema inmune en la aterosclerosis incluyen las citocinas anti-inflamatorias IL-10 y el factor de crecimiento transformante β (TGF-β), mientras que la IL-12 parece potenciar la aterogénesis a través de la dirección del compromiso de células T colaboradoras al linaje Th1 y que actúa como un potente quimioattractor de células T para lesiones ateroscleróticas [Zhang et al., *Circ Res*. 2006, 98: 524-531; Kleemann et al., *Cardiovasc Res*. 2008, 79: 360-376].

Otros antecedentes adicionales de la técnica incluyen Jin y Lee [*Immunity* 2008, 29: 182-191], Kim et al. [*J Biol Chem* 2005, 280: 11347-11351], Kawai y Akira [*Nature Immunol* 2010, 11: 373-384], y Perera et al. [*J Immunol* 2001, 166: 574-581].

Sumario de la invención

La presente invención proporciona el compuesto 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio que no es esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

En particular, la invención se refiere a las siguientes realizaciones:

1. Un compuesto, que es 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina, para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio, en donde dicha enfermedad o trastorno inflamatorio es esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

2. El compuesto para uso según la realización 1, en donde dicho compuesto es (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-*sn*-glicerol-3-fosfocolina.

3. El compuesto para uso según la realización 1 o 2, en donde dicho compuesto presenta al menos dos actividades seleccionadas del grupo que consiste en:

a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14;

b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2;

y

c) inhibir la quimiotaxis de monocitos.

4. El compuesto para uso según la realización 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14; e inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

5. El compuesto para uso según la realización 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14; e inhibir la quimiotaxis de monocitos.

6. El compuesto para uso según la realización 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2; e inhibir la quimiotaxis de monocitos.

7. El compuesto para uso según la realización 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14; inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2; e inhibir la quimiotaxis de monocitos.

8. El compuesto para uso según cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde dicho compuesto es para administrar a un humano.

9. El compuesto para uso según cualquiera de las realizaciones 1 a 8, en donde dicho compuesto inhibe la actividad de TLR4.

10. El compuesto para uso según cualquiera de las realizaciones 1 a 9, en donde la 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfolina está en la forma de una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable.

11. El compuesto para uso según cualquiera de las realizaciones 1 a 9, en donde dicho compuesto es al menos un agente capaz de presentar al menos dos actividades seleccionadas entre (a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, (b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y (c) inhibir la quimiotaxis de monocitos, y en donde dicho agente se selecciona entre 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfolina y las sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

12. El compuesto para uso según cualquiera de las realizaciones 1 a 11, en donde dicho compuesto es para administración oral.

Breve descripción de las figuras

Algunas realizaciones de la invención, así como las realizaciones de referencia, se describen en la presente memoria meramente a modo de ejemplo, haciendo referencia a las figuras acompañantes. Realizando una referencia específica ahora a las figuras de forma detallada, se indica que los detalles particulares mostrados son meramente a modo de ejemplo y para los fines de ilustrar la discusión. A este respecto, la descripción considerada con las figuras hace evidente a los especialistas de la técnica cómo se pueden llevar a la práctica las realizaciones de la invención y las realizaciones de referencia.

En las figuras:

FIG. 1A y 1B: son gráficos que muestran la captación de VB-201 marcado con 3H por parte de monocitos humanos CD14+, células dendríticas derivadas de monocitos (DCs), células T CD4+, y células B CD19+ (FIG. 1A), y por parte de células dendríticas derivadas de médula ósea de ratón CD11c+, células T CD90+, y células B CD45R+ (FIG. 1B);

FIG. 2A y 2G: presentan imágenes de ensayos Western Blot de p38 fosforilada (pp38) en células derivadas de médula ósea de ratón (BMDCs) pretratadas con VB-201 1,7, 8,5 o 17 μ M o con disolvente (Solv), o no tratadas (Unt), y después estimuladas con Pam3CSK4 (un agonista de TLR2:1; Figura 2A), peptidoglicano (PGN, un agonista de TLR2:6; Figura 2B), lipopolisacárido (LPS, un agonista de TLR4; Figura 2C), flagelina (un agonista de TLR5; Figura 2D), R848 (un agonista de TLR7; Figura 2E), CpG (un agonista de TLR9; Figura 2F) o IL-1 β (un agonista de receptor de IL-1; Figura 2G) (los niveles de α -tubulina sirven como control de carga);

FIG. 3: presenta imágenes de ensayos Western Blot de p38 fosforilada (pp38), IKK α / β fosforilada (p-IKK α / β), I κ B α , y ERK1/2 fosforilada (pERK1/2) en monocitos humanos pretratados con VB-201 1,7, 8,5 o 17 μ M o con disolvente (Solv), o sin tratar (Unt), y después estimuladas con flagelina (un agonista de TLR5) o lipopolisacárido (LPS, un agonista de TLR4) (los niveles de α -tubulina sirven como control de carga);

FIG.4: presenta imágenes de ensayos Western Blot de p38 fosforilada (pp38), IKK α / β fosforilada (p-IKK α / β), I κ B α , y ERK1/2 fosforilada (pERK1/2) en macrófagos peritoneales de ratón pretratados con VB-201 1,7, 8,5 o 17 μ M o con disolvente (Solv), o sin tratar (Unt), y después estimuladas con Pam3CSK4 (un agonista de TLR2:1) o lipopolisacárido (LPS, un agonista de TLR4) (los niveles totales de ERK1/2 y de α -tubulina sirven como controles de carga);

FIG. 5: presenta imágenes de ensayos Western Blot de p38 fosforilada (pp38), IKK fosforilada (p-IKK), y ERK1/2 fosforilada (pERK1/2) en células CD14+ humanas (izquierda) y en células THP-1 (derecha), 5, 10 o 30 minutos después del tratamiento con suero amiloide A (SAA) 1 μ M, después de pretratamiento con disolvente o con VB-201 5 μ g/mL, o sin tratamiento con SAA (Unt) (los niveles de α -tubulina (α Tub) sirven como controles de carga);

FIG. 6A y 6B: presentan imágenes de ensayos Western Blot de p38 fosforilada (pp38; Figuras 6A y 6B), IKK α / β fosforilada (p-IKK α / β , Figura 6A), e I κ B α (Figura 6A) en macrófagos RAW 264.7 pretratados con VB-201 (Figura 6A) 1,7, 8,5 o 17 μ M o con VB-207 (Figura 6B) 4,25, 8,5 o 17 μ M, o con 0,5, 1, 2 o 4 μ L de una disolución de VB-201 marcada con ovoalbúmina-biotina (OB-VB201) o de VB-207 (OB-VB207) (Figura 6B), con disolvente (Solv), o sin tratar (Unt), y después estimuladas con LPS (los niveles de HSP90 sirven como control de carga);

FIG. 7A y 7B: presentan imágenes de ensayos Western Blot de CD14 (Figura 7A), CD36 (Figura 7B), TLR2, MyD88 y TLR4 procedentes de lisatos de monocitos humanos primarios (Figura 7A) o de células THP-1 (Figura 7B) que fueron precipitados con perlas de estreptavidina tras tratamiento con disolvente (Solv) o VB-201 marcado con ovoalbúmina-biotina (OB-VB201) o con VB-207 (OB-VB207); la banda de entrada representa el 1 % del lisato celular completo antes de la precipitación, a modo de control;

FIG. 8: presenta imágenes de ensayos Western Blot de CD14 y TLR2 procedentes de lisatos de células HEK293 no transfectadas o de células HEK 293 transfectadas (Trans.) que expresan niveles elevados de CD14 (hCD14) o TLR2 (hTLR2), respectivamente, que fueron precipitados con perlas de estreptavidina tras tratamiento con VB-201 marcado con ovoalbúmina-biotina (OB-VB201) o con VB-207 (OB-VB207); la banda de entrada representa el 1 % del lisato celular completo antes de la precipitación, a modo de control;

FIG. 9: es un gráfico que muestra el efecto del tratamiento con VB-201 0, 8,5 o 17 μM , sobre la unión de lipopolisacáridos biotinilados (biotina-LPS) a células RAW 264.7, que se detectó mediante tinción con estreptavidina-APC (Str-APC);

5 FIG. 10A-10D: son gráficos que muestran el efecto de la expresión de CD14 sobre la fluorescencia celular en células HEK tratadas con 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figuras 10B y 10D) o con 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figura 10A y 10C) de VB-201 marcado con ovoalbúmina-biotina (concentración de proteína BO-VB201; Figuras 10A y 10B) o de VB-207 marcado con ovoalbúmina-biotina (concentración de proteína BO-VB207; Figuras 10C y 10D); la unión de BO-VB201 y BO-VB207 se detectó mediante tinción con estreptavidina-APC (Str-APC);

10 FIG. 11A-11C: son un gráfico que muestra la expresión alta (R1) o la expresión baja (R2) de CD14 en células HEK 293 transfectadas (Figura 11A), y gráficos que muestran el efecto de la expresión alta y baja de CD14 en la fluorescencia de células HEK 293 tratadas con 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (concentración de proteína) (Figura 11C) o con 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (concentración de proteína) (Figura 11B) de BO-VB201; la unión de BO-VB201 se detectó mediante tinción con estreptavidina-APC (Str-APC);

15 FIG. 12A-12D: son gráficos que muestran el efecto de 0, 5, 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de anticuerpos anti-CD14 (Figuras 12A y 12C) y anticuerpos de control (Figuras 12B y 12D) sobre la unión de VB-201 marcado con ovoalbúmina-biotina (BO-VB201) a células HEK-Blue-4 (Figuras 12A y 12B) y monocitos humanos (Figuras 12C y 12D); la unión de BO-VB201 se detectó mediante tinción con estreptavidina-APC (Str-APC);

20 FIG. 13: es un gráfico de barras que muestra la cantidad de células THP-1 en un ensayo de quimiotaxis trans-pocillo, tras pretratamiento durante 30 minutos con disolvente, 2 o 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de VB-201 (los resultados con disolventes se definen como el 100 %; los asteriscos indican $p < 0,05$);

FIG. 14A: es un gráfico de barras que muestra el efecto de VB-201 12,5 μM sobre el flujo de calcio en un ensayo de activación de receptor acoplado a G-proteína (GPCR) para diversos receptores de quimiocina;

FIG. 14B y 14C: son gráficos que demuestran que VB-201 no actúa como antagonista de los receptores de quimiocina CCR2B o CCR5.

25 FIG. 15: es un gráfico de barras que muestra los niveles de cAMP en células dendríticas derivadas de monocitos humanos tratadas con disolvente, forskolina (FSK), o dosis crecientes de VB-201 o PAPC oxidado (Ox-PAPC) (los asteriscos indican $p < 0,05$);

30 FIG. 16A y 16B: presentan imágenes de ensayos Western Blot de Akt fosforilada (p-AKT; Figura 20A), MEK1/2 fosforilada (p-MEK1/2; Figura 20A), p38 fosforilada (pp38; Figura 16A) y ERK1/2 fosforilada (pERK1/2; Figuras 16A y 16B) en monocitos incubados durante 20 minutos con disolvente o con 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de VB-201 antes de la estimulación durante 2, 5 o 15 minutos con 20 ng/mL de MCP-1 (Figura 16A), 50 ng/mL de MCP-3 (Figura 16A) o 50 ng/mL de Fractalkina (Figura 16B) (los niveles de proteína total (fosforilada y no fosforilada) sirven de controles);

35 FIG. 17: es un gráfico de barras que muestra la cantidad de monocitos migrantes en un ensayo de quimiotaxis trans-pocillo, tras el pretratamiento con disolvente o 5 μM de GW5074 (los resultados con disolvente se definen como 100 %; el asterisco indica $p < 0,05$);

FIG. 18: presenta imágenes de ensayos Western Blot de ERK1/2 fosforilada (pERK1/2) en monocitos con y sin estimulación de MCP-1, 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de VB-201 y/o GW5074 2,5 μM (los niveles totales de ERK1/2 sirven como control de carga);

40 FIG. 19A y 19B: presentan un gráfico de barras que muestra áreas de lesión de seno aórtico en ratones bloqueados ApoE tratados diariamente durante 8 semanas sin PBS o con 0,15 o 1,5 mg/kg de VB-201 (Figura 19A) e imágenes de placa aterosclerótica de ratones, teñida para mostrar el área de placa (tinción con Aceite Rojo O) y macrófagos (tinción de anti-CD68) en la placa (Figura 19B);

FIG. 20: es un esquema que presenta características de rutas de señalización de CD14 y TLR4 (los círculos amarillos indican membrana plasmática y los círculos marrones indican núcleo); y

45 FIG. 21: es un esquema (de Kawai y Akira [*Nature Immunol* 2010, 11: 373-384]) que muestra las características de las rutas de señalización de receptor de tipo toll (TLR); las respuestas mediadas por TLR están controladas principalmente por la ruta dependiente de MyD88, que es usada por todos los TLRs excepto el TLR3, y la ruta dependiente de TRIF, que es usada por TLR3 y TLR4; TRAM y TIRAP son adaptadores usados por TLR4 y TLR2-TLR4, respectivamente; en células dendríticas convencionales (cDCs) y macrófagos, MyD88 recluta IRAK4, IRAK1, IRAK2 y TRAF6 e induce respuestas inflamatorias mediante la activación de NF- κB , MAPK e IRF5; TRAF6 activa TAK1 en complejo con TAB2 y TAB3, y activa el complejo IKK que consiste en NEMO e IKK α/β , que catalizan proteínas I κB para fosforilación; NF- κB induce C/EBP δ , I $\kappa\text{B}\xi$, I $\kappa\text{B-NS}$, Zc3h12a, ATF3 y tristeraprolina (TTP), que influyen en los genes que codifican IL-6, IL-12p40 o TNF; TRIF recluta TRAF6, TRADD y TRAF3; TRADD interactúa con Pellino-1 y RIP1; RIP1 y TRAF6 activan cooperativamente TAK1, lo que conduce a la activación de MAPK y NF- κB ; TRAF3 activa las quinasas TBK1 e IKKi, que fosforilan y activan IRF3, la última de las cuales controla la transcripción de interferón

55

de tipo I; Nrdp1 está implicado en la activación de TBK1-IKKi; la ruta dependiente de TRIF conduce a la activación de inflammasoma durante la señalización de TLR4; en células dendríticas plasmacitoides (pDCs), TLR7 y TLR9 reclutan MyD88 junto con IRAK4 y TRAF6, lo cual activa IRF5 y NF- κ B para la inducción inflamatoria de citocinas e IRF7 para la inducción de interferón de tipo I; para la activación de IRF7, se requiere la fosforilación dependiente de IRAK1 e IKK α , y TRAF3 está localizado por encima de dichas quinasas; OPN β está implicado en la activación de IRF7, e IRF8 facilita la activación de NF- κ B; el eje PI3K-mTOR-p70S6K potencia las rutas de señalización de TLR7 y TLR9; IRF1 está implicado en la inducción de interferón de tipo I por parte de TLR7 y TLR9 en cDCs; TANK suprime TRAF6, A20 suprime TRAF6 y RIP1, ATG16A suprime la activación de inflammasoma y SHP-1 suprime IRAK1 e IRAK2 (amarillo – TLRs; verde – estimuladores; rosa – reguladores negativos; azul – genes diana).

FIG. 22A-D: son gráficos de barras que muestran el efecto de VB-201 sobre la quimiotaxis de monocitos humanos *in vitro*. En la FIG. 22A, monocitos humanos (CD14 $^{+}$) aislados de sangre de donantes sanos fueron pretratados durante 30 minutos con disolvente, fosfatidilcolina (PC; 5 μ g/mL), 1-palmitoil-2-araquidonoil-sn-glicero-3-fosfolcolina (PAPC) oxidada (40 μ g/mL, 24h de oxidación), 1-palmitoil-2-glutaril fosfatidilcolina (PGPC) (5 μ g/mL) o VB-201 (5 μ g/mL), y a continuación fueron sometidos a un ensayo de quimiotaxis transpocillo, usando una mezcla de MCP-1 y RANTES (50 ng/mL de cada) para la atracción. Se determinó mediante FACS el número de células que migraban al compartimento inferior, y se normalizó respecto al control de disolvente. Los datos son la media \pm SD de un experimento representativo llevado a cabo por triplicado. En la FIG. 22B, se trataron células CD14 $^{+}$ con disolvente o con VB-201 (5 μ g/mL) antes del ensayo de quimiotaxis usando MCP-1 (50 ng/mL), MIP-1 α (50 ng/mL) o RANTES (100 ng/mL) como atractores. Los datos son la media \pm SD (n=3, por triplicado). En la FIG. 22C, el efecto de dosis crecientes de VB-201 o de PAPC oxidada (Ox-PAPC) sobre la migración de CD14 $^{+}$ hacia sobrenadante HUVEC. Los datos representan la media \pm SD (n=3, por triplicado). En la FIG. 22D, un ensayo MTS en monocitos humanos sometidos a dosis crecientes de VB-201 durante 16 h demuestra que la quimiotaxis inhibida por VB-201 no se debe a una viabilidad celular reducida (media \pm SD; n=7 por cuadruplicado). Las diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) respecto al disolvente están marcadas con un asterisco.

Figura 23A: es un gráfico de barras que muestra el efecto de VB-201 sobre la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en monocitos humanos. Se incubaron monocitos humanos (CD14 $^{+}$) aislados de sangre de pacientes sanos durante una noche con PBS, VB-201 (10 μ g/mL), PGPC (10 μ g/mL), o PAPC oxidada (OxPAPC) (100 μ g/mL). La detección de ROS se llevó a cabo mediante cuantificación con FACS del producto de oxidación diclorodihidrofluoresceína (DCF). Los datos son la media \pm SD de 3-4 experimentos llevados a cabo por duplicado. La Figura 23B es un histograma de un experimento representativo que muestra los niveles de DCF en células tratadas.

Figura 24A-C: son gráficos de barras que muestran los efectos de VB-201 en la fagocitosis de monocitos y en la adhesión de células endoteliales. En la FIG. 24A, se evaluó la capacidad de los monocitos para fagocitar partículas de *E. coli* marcadas con PE a 37°C en presencia de VB-201 (5 o 10 μ g/mL) o de control de disolvente. Para la detección del fondo no específico, las células fueron incubadas con partículas de PE a 4°C (control negativo, no fagocitosis). La intensidad de PE se cuantificó mediante FACS. Los datos están normalizados al disolvente y representan la media \pm SD (n=2). Se presenta un histograma representativo. La Fig. 24B es un gráfico de barras que muestra un ensayo de fagocitosis de granulocitos. En la FIG. 24C, se pretrataron monocitos marcados con calceína AM con control de disolvente o con dosis crecientes de VB-201 durante 30 minutos, antes de 15 minutos de incubación con HUVEC estimuladas con TNF α . Tras lavar, los monocitos adherentes fueron cuantificados mediante fluorómetro. Como referencia se muestra la adherencia de monocitos sin tratar a HUVEC no estimuladas, que demuestra la inducción mediada por TNF α de las moléculas de adhesión. Los datos son la media \pm SD (n=2). *, p<0,05 frente a disolvente.

FIG. 25A y 25B: son gráficos de barras que muestran el efecto de VB-201 sobre la migración de células T CD4 $^{+}$ y neutrófilos. En la FIG. 25A, se pretrataron células CD4 $^{+}$ humanas procedentes de donantes sanos durante 30 minutos con disolvente o con VB-201 (5 μ g/mL) y a continuación fueron sometidas a ensayo de quimiotaxis usando RANTES (100 ng/mL) y SDF-1 α (50 ng/mL) como atractores. Se determinó mediante FACS el número de células que migran al compartimento inferior, y se normalizó respecto al control de disolvente. Los datos son la media \pm SD de 3 experimentos diferentes llevados a cabo por triplicado. En la FIG. 25B, se pretrataron neutrófilos humanos aislados de donantes sanos durante 30 minutos con disolvente o con VB-201 (5 μ g/mL) y a continuación se sometieron a quimiotaxis hacia medio 2% FBS/RPMI-1640 suplementado con 100 ng/mL de LPS (barras negras), o alternativamente, hacia 10% FBS/RPMI-1640 suplementado con 100 ng/mL de MCP-3 (barras grises). Los datos son la media \pm SD de 4 donantes diferentes evaluados por triplicado. NS – no se observa diferencia significativa entre el tratamiento con VB-201 y el control de disolvente. La FIG. 25C presenta imágenes de ensayos Western Blot de ERK1/2 fosforilada (pERK1/2) en células T CD4 $^{+}$ primarias 2, 5 o 15 minutos después del tratamiento con 50 ng/mL de SDF-1 α (izquierda), o monocitos CD14 $^{+}$ 2, 5 o 15 minutos después del tratamiento con 50 ng/mL de RANTES (derecha), tras pretratamiento con disolvente o VB-201, o sin pretratamiento (Un); las células T y los monocitos fueron aislados del mismo donante (la ERK1/2 sirve como control de carga);

FIG. 26A: es un gráfico de barras que muestra el efecto de VB-201 sobre la quimiotaxis de monocitos *in vivo*. Se administró oralmente a ratones C57B6J WT dosis crecientes de VB-201 como se indica. Después de 5 días de administración, se inyectó tioglicolato en la cavidad peritoneal de los ratones para inducir la migración de monocitos. Cuatro días después, los ratones fueron sacrificados y se recolectaron las células migrantes del peritoneo y se contabilizaron mediante un hemocitómetro. Los datos son la media \pm SE, tomados de 3-4 experimentos independientes. Se muestran las concentraciones en plasma de VB-201 de cada grupo. La FIG. 26B es un análisis

FACS. Para caracterizar su identidad, las células migrantes fueron teñidas con el marcador de macrófago F4/80 y con el marcador de neutrófilos GR-1. El análisis FACS de un animal representativo demuestra que ~95% de las células aisladas del peritoneo son macrófagos.

5 FIG. 27: es un ensayo Western Blot que muestra el efecto de VB-201 sobre la activación intracelular inducida por GTP- γ -S de las rutas de AKT y ERK en la línea celular monocítica THP-1.

FIG. 28: es un ensayo Western Blot que muestra el efecto de VB-201 sobre la activación intracelular inducida por EGF de ERK en THP-1, pero no en células HEK293.

FIG. 29: es un ensayo Western Blot que muestra el efecto de VB-201 sobre la fosforilación de ERK1/2 en monocitos humanos que fueron pre-estimulados con MCP-1 durante una noche.

10 FIG. 30A: es un ensayo Western Blot que muestra el efecto de VB-201 sobre la activación inducida por CRP de las rutas de AKT y ERK en la línea celular monocítica THP-1. La FIG. 30B es un gráfico de barras que muestra la inhibición de quimiotaxis inducida por proteína reactiva C de monocitos humanos.

FIG. 31A y 31B: son análisis FACS que muestran la unión de VB-201 a TLR2 expresado sobre la superficie celular.

15 FIG. 32: es un gráfico de barras que muestra el efecto inhibitorio de Wortmannina, Rapamicina y el inhibidor de RAF GW5074 sobre la quimiotaxis de monocitos.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al compuesto 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio que es esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

20 Los principios y la operación de la presente invención pueden comprenderse mejor haciendo referencia a las figuras y a las descripciones acompañantes.

25 Antes de explicar al menos una realización de la invención en detalle, debe entenderse que la invención no está limitada en su aplicación a los detalles presentados en la siguiente descripción, o mostrados en los Ejemplos. La invención es capaz de tener otras realizaciones, o de ser llevada a la práctica o a cabo de formas diversas según las reivindicaciones. Asimismo, debe entenderse que la fraseología y la terminología empleadas en la presente memoria son para los fines descriptivos y no deberían ser consideradas como limitativas.

El fosfolípido oxidado a usar según la presente invención es 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina. VB-201 es 1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina, también denominada (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina. El término VB-201 incluye las sales o solvatos (p.ej., hidratos) farmacéuticamente aceptables del mismo. En una realización, la actividad que es inhibida es actividad de TLR2.

30 En otra realización, la actividad que es inhibida es actividad de CD14.

En otra realización, la actividad que es inhibida es actividad de quimiotaxis de monocitos.

En otra realización, se inhibe la actividad de TLR2 y la actividad de CD14.

En otra realización, se inhibe la actividad de TLR2 y la actividad de quimiotaxis de monocitos.

En otra realización, se inhibe la actividad de CD14 y la actividad de quimiotaxis de monocitos.

35 En otra realización, se inhibe la actividad de TLR2, la actividad de CD14 y la actividad de quimiotaxis de monocitos.

VB-201 (también denominado en la presente memoria y en la técnica como CI-201), un derivado lipídico oxidado, ha demostrado ser una promesa considerable como agente terapéuticamente activo en diversos modelos *in vitro* y modelos de animal *in vivo* de afecciones inflamatorias. Otros lípidos oxidados también han mostrado evidencias de actividad antiinflamatoria.

40 En un intento de mejorar el tratamiento de enfermedades y trastornos inflamatorios, los inventores de la presente han estudiado en detalle los efectos y el mecanismo de acción del VB-201. Los protocolos de estos ensayos se describen detalladamente en la sección de Ejemplos incluida más adelante. En base a los datos obtenidos en los estudios llevados a cabo, los inventores de la presente han desarrollado regímenes de tratamiento mejorados que utilizan VB-201.

45 En particular, los inventores de la presente han concebido que se puede usar una variedad de agentes para proporcionar el mecanismo terapéutico de acción presentado por el VB-201.

En referencia ahora a las figuras y tablas, las Figuras 1A y 1B demuestran que el VB-201 se asocia más con monocitos y células dendríticas que con células T y células B.

Las Figuras 2A-5 demuestran que el VB-201 inhibe la señalización mediante la activación del heterodímero de TLR2 (receptor de tipo toll 2) y mediante la activación de TLR4 (receptor de tipo toll 4), pero no la señalización por activación de receptor TLR5, TLR7, TLR9 o de IL-1 β (interleucina-1 β).

5 Las Figuras 6A y 6B demuestran que el VB-201 y el VB-201 biotinilado inhiben la señalización de TLR4, pero que el VB-207 (1-octil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfolina) y el VB-207 biotinilado no lo hacen. Las Figuras 7A y 7B muestran que el VB-201 se une a CD14 y TLR2, pero no a TLR4, MyD88 o CD36, y que el VB-201 no se une a ninguna de las proteínas mencionadas anteriormente. La Figura 8 muestra adicionalmente que el VB-201 se une a CD14 y a TLR2. Las Figuras 10A-12D muestran adicionalmente que el VB-201 se une a CD14. La Figura 9 muestra que el VB-201 inhibe la unión de lipopolisacárido a CD14.

10 Estos resultados indican que el VB-201 y los compuestos relacionados inhiben la actividad de TLR2 a través de la unión a TLR2, y además inhiben la actividad de TLR4 y CD14 a través de la unión a CD14, previniendo con ello la unión de lipopolisacárido a CD14. Como el CD14 transporta lipopolisacárido a TLR4, se cree que la inhibición de CD14 reduce la unión de lipopolisacárido a TLR4. Los resultados indican adicionalmente que las células dendríticas y los monocitos se ven más afectados que las células T y las células B.

15 La Figura 26A demuestra que los lípidos oxidados VB-201 y PGPC inhiben la quimiotaxis de monocitos, mientras que los lípidos no oxidados y los lípidos parcialmente oxidados no lo hacen.

Las Figuras 19A y 19B demuestran que la reducción por parte de VB-201 de la formación de lesión aórtica está asociada a una reducción del número de macrófagos en la zona de la lesión.

Las Figuras 25A y 25B demuestran que el VB-201 no inhibe la quimiotaxis de células T o de neutrófilos.

20 Estos resultados indican que la inhibición de la quimiotaxis de monocitos desempeña un papel en el beneficio terapéutico del VB-201 y los compuestos relacionados.

Las Figuras 14, 15 y 24 demuestran que el VB-201 no inhibe la fagocitosis de monocitos, la señalización de calcio, la señalización de cAMP, o actúa como un quimioatractor o un antagonista de receptor de citocina.

25 Las Figuras 16A y 16B demuestran que el VB-201 inhibe la activación de AKT, MEK y ERK a través de una variedad de quimiocinas. Las Figuras 17, 18 y 32 demuestran que los inhibidores de la ruta de señalización MEK-ERK o PI3K/AKT/mTOR inhiben la quimiotaxis de monocitos, y que una combinación de VB-201 y un inhibidor de ruta MEK-ERK, o con un inhibidor de ruta PI3K/mTOR, es particularmente efectiva en la inhibición de la quimiotaxis.

30 Estos resultados indican que el VB-201 inhibe específicamente la quimiotaxis en monocitos, a través de la inhibición de un proceso intracelular aguas debajo de los receptores de quimiocina, que incluye la ruta MEK-ERK, y no a través de la inhibición de la actividad de monocitos en general.

La Figura 20 muestra la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, que incluye TLR4.

La Figura 21 muestra las rutas de señalización asociadas a varios receptores de tipo toll, que incluyen TLR2 y TLR4 (que se asocia a la actividad de CD14).

35 Considerados en conjunto, los resultados anteriores indican que los compuestos que presentan las actividades descritas en la presente memoria anteriormente, a saber, la inhibición de la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, la inhibición de la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y/o la inhibición de la quimiotaxis de monocitos, pueden proporcionar los beneficios terapéuticos asociados a VB-201 y compuestos relacionados, tanto solos como en combinación con VB-201 o un compuesto relacionado.

40 Los anteriores resultados indican además que los compuestos que presentan, o una combinación de compuestos que juntos presentan, inhibición de la actividad de CD14 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, e inhibición de la actividad de TLR2 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, pueden proporcionar beneficios terapéuticos similares a los presentados por el VB-201 o un compuesto relacionado.

45 Los anteriores resultados indican además que los compuestos que presentan, o una combinación de compuestos que juntos presentan, inhibición de la actividad de CD14 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, inhibición de la actividad de TLR2 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, e inhibición de la quimiotaxis de monocitos, pueden proporcionar beneficios terapéuticos similares a los presentados por el VB-201 o un compuesto relacionado.

50 Los anteriores resultados indican además que los compuestos que presentan, o una combinación de compuestos que juntos presentan, inhibición de la actividad de CD14 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, e inhibición de la quimiotaxis de monocitos, pueden proporcionar beneficios terapéuticos similares a los presentados por el VB-201 o un compuesto relacionado.

Los anteriores resultados indican además que los compuestos que presentan, o una combinación de compuestos que juntos presentan, inhibición de la actividad de TLR2 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, e inhibición de la quimiotaxis de monocitos, pueden proporcionar beneficios terapéuticos similares a los presentados por el VB-201 o un compuesto relacionado.

5 Los anteriores resultados indican además que el VB-201 o un compuesto relacionado pueden usarse de forma beneficiosa en combinación con cualquiera de los compuestos, o combinación de compuestos, mencionados anteriormente, para proporcionar un efecto terapéutico mejorado.

10 Por lo tanto, según un aspecto de realizaciones descritas en la presente memoria, se proporciona un agente para uso en un método de tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente (p.ej., un agente, dos agentes o tres agentes). El al menos un agente (p.ej., un agente, dos agentes o tres agentes, mencionados anteriormente) es capaz de presentar al menos dos actividades seleccionadas del grupo que consiste en:

- a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14,
- b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y
- 15 c) inhibir la quimiotaxis de monocitos.

Para abreviar, el grupo mencionado anteriormente también se denomina en la presente memoria “tres actividades”.

Según las realizaciones opcionales descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende al menos dos agentes (p.ej., dos agentes, tres agentes).

20 Debe entenderse que cuando se usa más de un agente, es la combinación de los agentes la que es capaz de presentar al menos dos de las tres actividades, aunque opcionalmente, ninguno de los agentes presente más de una de las tres actividades por sí mismo.

Las realizaciones que se refieren a al menos dos agentes se consideran en la presente memoria como realizaciones que se refieren a una combinación de agentes o a una combinación de compuestos.

25 En algunas realizaciones, al menos un agente presenta al menos dos de las tres actividades descritas en la presente memoria, y opcionalmente las tres actividades descritas en la presente memoria. Dicho agente puede usarse solo (ya que presenta al menos dos de las tres actividades descritas en la presente memoria, según los requisitos de las realizaciones de la invención), o en combinación con al menos un agente adicional.

30 El uso de un agente que presenta al menos dos de las tres actividades descritas en la presente memoria es opcionalmente ventajoso, ya que permite el uso de un menor número de agentes. Por ejemplo, se puede usar un único agente en lugar de agentes múltiples para presentar dos o tres de las actividades, y/o se pueden usar dos agentes en lugar de tres agentes para presentar las tres actividades.

El uso de un menor número de agentes facilita la co-administración y/o la co-formulación de los agentes.

35 En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, al menos un agente presenta solo una de las tres actividades descritas en la presente memoria, y se usa en combinación con al menos otro agente (p.ej., un agente adicional), que presenta al menos una de las dos actividades restantes descritas en la presente memoria, de tal modo que la combinación de al menos dos agentes presenta al menos dos de las tres actividades descritas en la presente memoria.

40 El uso de un agente que presenta solo una de las tres actividades descritas en la presente memoria es opcionalmente ventajoso, ya que permite una mayor selectividad, con menos actividades no deseadas. Por ejemplo, dos de las tres actividades descritas en la presente memoria se pueden obtener selectivamente usando dos agentes que presentan cada uno de forma selectiva una de las actividades, y/o las tres actividades descritas en la presente memoria se pueden obtener selectivamente usando tres agentes que presentan cada uno de forma selectiva una de las actividades.

45 Según realizaciones opcionales, el al menos un agente es capaz de presentar una actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 (p.ej., como se describe en la presente memoria), así como una actividad de inhibición de la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 (p.ej., como se describe en la presente memoria).

Opcionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta ambas de las actividades mencionadas anteriormente.

50 Tal como se describe en la presente memoria, alternativa o adicionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las

otras dos actividades descritas en la presente memoria), y al menos otro agente adicional (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria).

5 Según realizaciones opcionales, el al menos un agente es capaz de presentar una actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 (p.ej., como se describe en la presente memoria), así como una actividad de inhibición de la quimiotaxis de monocitos (p.ej., como se describe en la presente memoria).

10 Opcionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta ambas de las actividades mencionadas anteriormente.

15 Tal como se describe en la presente memoria, alternativa o adicionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria), y al menos otro agente adicional (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la quimiotaxis de monocitos (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria).

20 Según realizaciones opcionales, el al menos un agente es capaz de presentar una actividad de inhibición de la quimiotaxis de monocitos (p.ej., como se describe en la presente memoria), así como una actividad de inhibición de la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 (p.ej., como se describe en la presente memoria).

Opcionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta ambas de las actividades mencionadas anteriormente.

25 Tal como se describe en la presente memoria, alternativa o adicionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la quimiotaxis de monocitos (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria), y al menos otro agente adicional (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria).

30 En algunas realizaciones, el al menos un agente es capaz de presentar las tres actividades descritas en la presente memoria, a saber, inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, e inhibir la quimiotaxis de monocitos.

Opcionalmente, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta las tres actividades mencionadas anteriormente.

35 Alternativa o adicionalmente, tal como se describe en la presente memoria, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta una de las tres actividades descritas en la presente memoria (que inhibe la quimiotaxis de monocitos), y al menos otro agente adicional (opcionalmente, un agente) que presenta las otras dos actividades descritas en la presente memoria.

40 Alternativa o adicionalmente, tal como se describe en la presente memoria, el al menos un agente comprende al menos un agente (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria), al menos otro agente adicional (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria), y al menos otro agente adicional (opcionalmente, un agente) que presenta una actividad de inhibición de la quimiotaxis de monocitos (y opcionalmente, dicho agente no presenta ninguna de las otras dos actividades descritas en la presente memoria).

45 En la presente memoria se describen ejemplos de agentes adecuados que presentan al menos una de las actividades descritas en la presente memoria y que incluyen, sin limitación, un inhibidor de TLR2 (receptor de tipo toll 2), un inhibidor de TLR1 (receptor de tipo toll 1), un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2 (linfocito antígeno 96), un inhibidor de LBP (proteína de unión a lipopolisacárido), un inhibidor de TLR6 (receptor de tipo toll 6), un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TRAM (molécula adaptadora relacionada con TRIF), un inhibidor de TRIF (interferón β inductor de adaptador que contiene dominio TIR), un inhibidor TIRAP (proteína adaptadora que contiene dominio TIR), un inhibidor de IRAK1 (quinasa 1 asociada a receptor de IL-1), un inhibidor de IRAK2 (quinasa 2 asociada a receptor de IL-1), un inhibidor de IRAK4 (quinasa 4 asociada a receptor de IL-1), un inhibidor de TRAF6 (factor 6 asociado a receptor de TNF), un inhibidor de TRAF3 (factor 3 asociado a receptor de TNF), un inhibidor de RIP1 (serina-treonina quinasa 1 que interactúa con receptor (TNFRSF)), un inhibidor de TAB1 (quinasa 1 activada por TGF-

β), un inhibidor de TAB2 (quinasa 2 activada por TGF-β), un inhibidor de TAK1 (también conocido como “MAP3K7”), un inhibidor de IKK (quinasa IκB) (p.ej., un inhibidor de IKK-α, IKK-β, IKK-γ y/o IKK-ε), un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3 (MAP quinasa quinasa 3), un inhibidor de MKK6 (MAP quinasa quinasa 6), un inhibidor de MLK (quinasa de linaje mixto), un inhibidor de MKK4 (MAP quinasa quinasa 4), un inhibidor de MKK7 (MAP quinasa quinasa 7), un inhibidor de MEK1 (MAP quinasa quinasa 1), un inhibidor de MEK2 (MAP quinasa quinasa 2), un inhibidor de p38 (p38 MAP quinasa), un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2 (es decir, un inhibidor de ERK1 y/o ERK2), un inhibidor de NFκB (que abarca activadores de IκB), un inhibidor de AP-1 (proteína activadora 1), un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3 (factor 3 regulador de interferón), un inhibidor de IRF5 (factor 5 regulador de interferón), un inhibidor de BTK (tirosina quinasa de Bruton), un inhibidor de JAK2 (janus quinasa 2), un inhibidor de Syk (tirosina quinasa de bazo), un inhibidor de CD36, un inhibidor de secuestrador de receptor-A, un inhibidor de Rac GTPasa, un inhibidor de PI3K (fosfatidil inositol 3-quinasa), un inhibidor de AKT (proteína quinasa B), un inhibidor de mTORC1 (diana de mamífero de complejo de rapamicina 1), un inhibidor de mTORC2 (diana de mamífero de complejo de rapamicina 2), un inhibidor de PDK1 (proteína quinasa-1 dependiente de fosfoinosítide), un activador de TNFAIP3 (proteína 3 inducida por TNF-α), un activador de TANK (activador de NFκB asociado a miembro de la familia TRAF), un activador de SHP-1 (fosfatasa 1 que contiene dominio de región 2 de homología a Src), un activador de TOLLIP (proteína de interacción de toll), y/o un activador de IRAK3 (quinasa 3 asociada a receptor de IL-1).

En la presente memoria, un “inhibidor” de un grupo funcional biológico dado (referido en la presente memoria como “diana”, p.ej., una proteína) se refiere a un compuesto que regula a la baja una actividad del grupo funcional biológico. La inhibición presentada por un inhibidor, tal como se define en la presente memoria, muestra al menos algo de selectividad, es decir, la inhibición no es el resultado de una interacción con una amplia variedad de compuestos (p.ej., proteínas) en general.

La regulación a la baja de la actividad de una diana proteínica puede efectuarse a nivel genómico y/o a nivel de transcrito usando una variedad de moléculas que interfieren con la transcripción y/o la traducción [p.ej., agentes silenciadores de ARN (p.ej., antisentido, siARN, shARN, microARN), ribozima y ADNzima], o a nivel de proteína usando, p.ej., antagonistas, enzimas que rompen el polipéptido, moléculas pequeñas que interfieren con la actividad de la proteína (p.ej., ligandos competitivos) y similares.

A continuación se incluye una lista de agentes capaces de regular a la baja el nivel de expresión y/o la actividad de una diana.

Un ejemplo, de un agente capaz de regular a la baja una diana es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo capaz de unirse específicamente a la diana. Preferiblemente, el anticuerpo se une específicamente a al menos un epítipo de una diana. Tal como se usa en la presente memoria, el término “epítipo” se refiere a cualquier determinante antigénico en un antígeno al cual se une el paratopo de un anticuerpo.

Los determinantes epitópicos habitualmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de carbohidratos, y habitualmente presentan características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas.

El término “anticuerpo” tal como se usa en la presente memoria incluye moléculas intactas, así como fragmentos funcionales de las mismas, tal como Fab, F(ab')₂ y Fv, que son capaces de unirse a macrófagos. Dichos fragmentos funcionales de anticuerpo se definen como se indica a continuación: (1) Fab, el fragmento que contiene un fragmento de unión a antígeno monovalente de una molécula de anticuerpo, puede producirse mediante digestión de un anticuerpo completo con la enzima papaína para dar lugar a una cadena ligera intacta y a una porción de una cadena pesada; (2) Fab', el fragmento de una molécula de anticuerpo que puede obtenerse mediante tratamiento de un anticuerpo entero con pepsina, seguido de reducción, para dar lugar a una cadena ligera intacta y una porción de la cadena pesada; por cada molécula de anticuerpo se obtienen dos fragmentos Fab'; (3) (Fab')₂, el fragmento del anticuerpo que puede obtenerse tratando un anticuerpo completo con la enzima pepsina sin reducción posterior; F(ab')₂ es un dímero de dos fragmentos Fab' mantenidos juntos por dos puentes de disulfuro; (4) Fv, definido con un fragmento diseñado genéticamente que contiene la región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada expresadas como dos cadenas; y (5) anticuerpo de cadena individual (“SCA”), una molécula diseñada genéticamente que contiene la región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada, ligadas mediante un polipéptido ligando adecuado como una molécula de cadena individual genéticamente condensada.

La regulación a la baja de una diana también se puede lograr mediante silenciamiento de ARN. Tal como se usa en la presente memoria, la frase “silenciamiento de ARN” se refiere a un grupo de mecanismos reguladores [p.ej., interferencia de ARN (ARNi), silenciamiento génico transcripcional (TGS), silenciamiento génico post-transcripcional (PTGS), sofocamiento, co-supresión, y represión traduccional] mediados por moléculas de ARN que dan como resultado la inhibición o “silenciamiento” de la expresión de un gen codificador de proteína correspondiente. El silenciamiento de ARN se ha observado en muchos tipos de organismos, que incluyen plantas, animales y hongos.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “agente de silenciamiento de ARN” se refiere a un ARN que es capaz de inhibir específicamente o “silenciar” la expresión de un gen diana. En determinadas realizaciones, el agente silenciador de ARN es capaz de prevenir el procesamiento completo (p.ej., la traducción y/o la expresión completa) de una molécula de ARNm a través de un mecanismo de silenciamiento post-transcripcional. Los agentes silenciadores

de ARN incluyen moléculas de ARN no codificadoras, por ejemplo dúplex de ARN que comprenden cadenas emparejadas, así como ARNs precursores a partir de los cuales se pueden generar dichos ARNs no codificadores pequeños. Los ejemplos de agentes silenciadores de ARN incluyen dsARNs tales como siARNs, miARNs y shARNs. En una realización, el agente silenciador de ARN es capaz de inducir interferencia de ARN. En otra realización, el agente silenciador de ARN es capaz de mediar en la represión traduccional.

Interferencia de ARN se refiere al proceso de silenciamiento génico post-transcripcional específico de secuencia en animales mediado por ARNs interferentes cortos (siARNs). El proceso correspondiente en plantas se denomina habitualmente silenciamiento génico post-transcripcional o silenciamiento de ARN, y también se conoce como sofocamiento en hongos. Se cree que el proceso de silenciamiento génico post-transcripcional es un mecanismo de defensa celular conservado evolutivamente usado para prevenir la expresión de genes extraños, y es compartido comúnmente por flora y fauna diversa. Dicha protección frente a la expresión de genes extraños puede haber evolucionado en respuesta a la producción de ARNs de cadena doble (dsARNs) derivados de infección vírica o de la integración aleatoria de elementos de transposición en un genoma hospedante vía respuesta celular que destruye específicamente ARN de cadena sencilla homólogo o ARN genómico vírico.

Algunas realizaciones descritas en la presente memoria contemplan el uso de dsARN para regular a la baja la expresión proteínica de ARNm.

El término "siARN" se refiere a dúplex de ARN inhibidores pequeños (generalmente de entre 18 y 30 pares de bases) que inducen la ruta de interferencia de ARN (ARNi). Típicamente, los siARNs son sintetizados químicamente como 21meros con una región dúplex central de 19 pb y salientes 3' simétricos de 2 bases en los extremos, aunque se ha descrito recientemente que los dúplex de ARN sintetizados químicamente con una longitud de 25-30 bases pueden presentar un incremento de 100 veces en la potencia, en comparación con los 21meros de la misma localización. Para el aumento de potencia observado obtenido usando ARNs más largos en la activación de ARNi se ha propuesto la teoría de que es resultado de proporcionar Dicer con un sustrato (27mero) en lugar de un producto (21mero) y que esto mejor la velocidad o la eficacia de la entrada del dúplex de siARN en RISC.

Las cadenas de un ARN interferente de cadena doble (p.ej., un siARN) pueden conectarse para formar una horquilla o estructura de tallo-bucle (p.ej., un shARN). De esta manera, como se ha mencionado el agente silenciador de ARN también puede ser un ARN de horquilla corto (shARN).

El término "shARN", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un agente de ARN que tiene una estructura de tallo-bucle, que comprende una primera y una segunda región de secuencia complementaria, siendo el grado de complementariedad y la orientación de las regiones suficientes para que se produzca el emparejamiento de bases entre las regiones, estando unidas la primera y segunda regiones por una región de bucle, siendo resultado el bucle de una falta de emparejamiento de bases entre nucleótidos (o análogos de nucleótido) dentro de la región de bucle. El número de nucleótidos del bucle es un número entre, inclusive, 3 y 23, o 5 y 15, o 7 y 13, o 4 y 9, o 9 y 11. Algunos de los nucleótidos del bucle pueden estar implicados en las interacciones de pares de bases con otros nucleótidos del bucle. Los ejemplos de secuencias de oligonucleótidos que pueden usarse para formar el bucle incluyen 5'-UUCAAGAGA-3' (Brummelkamp, T. R. et al. (2002) Science 296: 550) y 5'-UUUGUGUAG-3' (Castanotto, D. et al. (2002) RNA 8: 1454). El especialista en la técnica reconocerá que el oligonucleótido de cadena individual resultante forma una estructura de lazo-bucle o de horquilla que comprende una región de cadena doble capaz de interactuar con la maquinaria de ARNi.

Cabe destacar que el agente silenciador de ARN de algunas realizaciones descritas en la presente memoria no tiene porqué limitarse a las moléculas que contienen solo ARN, sino que abarca además nucleótidos y no nucleótidos modificados químicamente.

En algunas realizaciones, el agente silenciador de ARN proporcionado en la presente memoria puede estar asociado funcionalmente con un péptido de penetración celular. Tal como se usa en la presente memoria, un "péptido de penetración celular" es un péptido que comprende una secuencia de aminoácido corta (de aproximadamente 12-30 residuos) o una estructura funcional que confiere las propiedades de traslocalización independientes de energía (es decir, no endocíticas) asociadas al transporte del complejo permeable a membrana a través de las membranas plasmáticas y/o nucleares de una célula.

Según otra realización, el agente silenciador de ARN puede ser un miARN o una especie mimética del mismo.

El término "microARN", "miARN" y "miR" son sinónimos y se refieren a una colección de moléculas de ARN de cadena sencilla no codificadoras de aproximadamente 19-28 nucleótidos de longitud, que regulan la expresión génica. Los miARNs se encuentran en un amplio rango de organismos (virus, f. wdarw. humans) y se ha demostrado que desempeñan una función en el desarrollo, la homeostasis y la etiología de la enfermedad.

El término "especie mimética de microARN" se refiere a ARNs no codificadores sintéticos que son capaces de entrar en la ruta de ARNi y regular la expresión génica. Las especies miméticas de miARN imitan la función de los microARNs endógenos (miARNs) y pueden diseñarse como moléculas de cadena doble maduras o como precursores miméticos (p.ej., o pre-miARNs). Las especies miméticas de miARN pueden comprender ARN, ADN, híbridos ARN-ADN, o químicas de ácido nucleico alternativas (p.ej., LNAs o ácidos nucleicos con puentes de 2'-O,4'-C-etileno (ENA)),

modificados o sin modificar. Para especies miméticas de miARN de cadena doble maduras la longitud de la región dúplex puede variar entre 13-33, 18-24 o 21-23 nucleótidos. El miARN también puede comprender un total de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos. La secuencia del miARN puede ser los primeros 13-33 nucleótidos del pre-miARN. La secuencia del miARN también puede ser los últimos 13-33 nucleótidos del pre-miARN.

Otro agente capaz de regular a la baja una diana es una molécula de ADNzima capaz de romper específicamente un transcrito de mRNA o una secuencia de ADN de la diana. Las ADNzimas son polinucleótidos de cadena sencilla que son capaces de romper tanto secuencia diana de cadena sencilla como de cadena doble (Breaker, R.R. and Joyce, G. Chemistry and Biology 1995; 2: 655; Santoro, S.W. & Joyce, G.F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997; 94: 4262). Se ha propuesto un modelo general (el modelo "10-23") para la ADNzima. Las ADNzimas "10-23" tienen un dominio catalítico de 15 desoxirribonucleótidos, flanqueados por dos dominios de reconocimiento de sustrato de siete a nueve uniones purina:pirimidina (Santero, S.W. & Joyce, G.F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999; para una revisión de ADNzimas véase Khachigian, LM [Curr Opin Mol Ther 4: 119-21 (2002)]).

La regulación a la baja de una diana también se puede efectuar usando un polinucleótido antisentido capaz de hibridarse específicamente con un transcrito de mRNA que codifica la diana.

Otro agente capaz de regular a la baja una diana es una molécula de ribozima capaz de romper específicamente un transcrito de mRNA que codifica una diana. Las ribozimas se usan cada vez más para la inhibición específica de secuencia de la expresión génica mediante la ruptura de mARNs que codifican proteínas de interés [Welch et al., Curr Opin Biotechnol. 9: 486-96 (1998)].

Otro agente capaz de regular a la baja una diana sería cualquier molécula que se une a y/o rompe la diana. Dichas moléculas pueden ser antagonistas de la diana, o péptidos inhibidores de la diana.

Cabe destacar que también se puede usar un análogo no funcional de al menos una porción catalítica o de unión de una diana como agente que regula a la baja la diana.

Otro agente que puede usarse para regular a la baja una diana es una molécula que previene la activación de diana o la unión a sustrato.

En algunas realizaciones, un inhibidor de una proteína dada inhibe la proteína mediante la unión a la proteína, mediante la unión a un compuesto que se une a la proteína (p.ej., un sustrato, una proteína reguladora), y/o mediante la unión a un oligonucleótido (p.ej., mRNA) que codifica la proteína.

En algunas realizaciones, el inhibidor es una molécula pequeña (p.ej., que se caracteriza por un peso molecular inferior a 800 Da).

En algunas realizaciones, un inhibidor de una proteína dada inhibe la proteína mediante la unión a la proteína y/o a un oligonucleótido (p.ej., mRNA) que codifica la proteína.

En la presente memoria, un "activador" de un compuesto dado (p.ej., proteína) se refiere a un compuesto que aumenta una actividad del compuesto a través de un medio cualquiera, que incluye el aumento de una cantidad total del compuesto, por ejemplo, potenciando la expresión de una proteína y/o inhibición la destrucción de una proteína (p.ej., mediante proteasas celulares), así como el aumento de una cantidad de un estado activado del compuesto, por ejemplo, potenciando la activación de una proteína (p.ej., potenciando la fosforilación) y/o inhibiendo la desactivación de una proteína (p.ej., inhibiendo la desfosforilación), y/o inhibiendo cualquier tipo de regulación a la baja de un compuesto (p.ej., una proteína) descrito en la presente memoria. La activación presentada por un activador, tal como se define en la presente memoria, muestra al menos algo de selectividad, es decir, la activación no es el resultado de una interacción con una amplia variedad de compuestos (p.ej., proteínas) en general.

En algunas realizaciones, un activador de una proteína dada activa la proteína mediante la unión a la proteína, mediante la unión a un compuesto que se une a la proteína (p.ej., un sustrato, una proteína reguladora), y/o mediante la unión a un oligonucleótido (p.ej., mRNA) que codifica la proteína.

En algunas realizaciones, un activador de una proteína dada activa la proteína mediante la unión a la proteína y/o a un oligonucleótido (p.ej., mRNA) que codifica la proteína.

Un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, tal como se describe en la presente memoria, puede ser opcionalmente un inhibidor de CD14 (que presenta una actividad de inhibición de CD14), y/o un agente que inhibe la ruta de señalización asociada a CD14 (en contraposición con la inhibición de CD14 directamente), que incluye, sin limitación, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TRAM, un inhibidor de TRIF, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TRAF3, un inhibidor de RIP1, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un

5 inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de CD36, un inhibidor de secuestrador de receptor-UN, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

La proteína MyD88 está implicada en muchas rutas de señalización (p.ej., rutas de señalización de muchos TLRs). Consecuentemente, los agentes que afectan a MyD88, o a proteínas por debajo de MyD88, serán relativamente no específicos para la ruta asociada a CD14.

10 De este modo, en algunas realizaciones, un agente que presenta la actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 inhibe la actividad de CD14 (o la ruta de señalización) por encima de MyD88 (p.ej., como se muestra en la Figura 24 y/o en la Figura 25).

15 Los ejemplos de dichos agentes, que presentan solo una de las tres actividades descritas en la presente memoria, incluyen, sin limitación, un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TRAM y un inhibidor de TRIF.

20 En algunas realizaciones, un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 inhibe la actividad de CD14 (o la ruta de señalización) inhibiendo la actividad de TLR4, una proteína que forma complejo con TLR4 (p.ej., MD-2), o una proteína por encima de TLR4 (p.ej., CD14 y/o LBP). Sin pretender establecer ninguna teoría particular, es de esperar que dichos agentes sean inhibidores relativamente selectivos y potentes de la señalización de TLR4. En los ejemplos de realizaciones, el agente inhibe la actividad de CD14 (p.ej., mediante la unión a CD14).

25 Un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, tal como se describe en la presente memoria, puede opcionalmente ser un inhibidor de TLR2 (que presenta una actividad de inhibición de TLR2), un inhibidor de una proteína (p.ej., TLR1 y/o TLR6) capaz de formar un heterodímero con TLR2 (inhibiendo con ello al menos parcialmente la actividad de TLR2), y/o un agente que inhibe la ruta de señalización asociada a TLR2 (en contraposición con la inhibición de TLR2 o de un heterodímero del mismo directamente), que incluye, sin limitación, inhibidor de un MyD88, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y/o un activador de IRAK3.

35 En algunas realizaciones, un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 es un agente que inhibe la actividad de TLR2 mediante la inhibición de la actividad de TLR2, y/o una proteína que forma complejo con TLR2, por ejemplo, un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1, y/o un inhibidor de TLR6. En los ejemplos de realizaciones, el agente inhibe la actividad de TLR2 (p.ej., mediante la unión a TLR2).

40 En algunas realizaciones, un agente presenta tanto actividad de inhibición de la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 como actividad de inhibición de la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

45 Los ejemplos de agentes que presentan ambas actividades mencionadas anteriormente incluyen, sin limitación, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

55 Como la señalización de CD14 y de TLR2 comparten varias proteínas de señalización comunes, tales como TIRAP y MyD88, dicho agente puede opcionalmente ser un inhibidor de TIRAP y/o un inhibidor de MyD88, y/o un inhibidor de las rutas de señalización de CD14 y TLR2 por debajo de TIRAP y MyD88 (p.ej., tal como se muestra en la Figura 24 y/o en la Figura 25).

Alternativa o adicionalmente, dicho agente puede inhibir opcionalmente una proteína capaz de formar un dímero con TLR4 (que desempeña un papel en la señalización de CD14) y de TLR2, por ejemplo, un inhibidor de TLR6.

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de TLR5.

5 En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de TLR7.

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de TLR9.

10 En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de TLR5, TLR7 o TLR9.

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de TLR5, TLR7, TLR9 o receptor de IL-1 β .

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de cualquier otro TLR que no sea TLR2 y TLR4.

15 En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, no inhibe la actividad de una ruta de señalización asociada a los TLRs mencionados anteriormente (p.ej., TLR5, TLR7 y/o TLR9) y/o de receptor de IL-1 β .

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de TLR5.

20 En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de TLR7.

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de TLR9.

25 En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de TLR5, TLR7 o TLR9.

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de TLR5, TLR7, TLR9 o receptor de IL-1 β .

En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de ningún TLR que no sea TLR2 y TLR4.

30 En algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o de una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de una ruta de señalización asociada a los TLRs mencionados anteriormente (p.ej., TLR5, TLR7 y/o TLR9) y/o de receptor de IL-1 β .

Tal como se ejemplifica en la presente memoria, la inhibición de la quimiotaxis de monocitos puede efectuarse inhibiendo una ruta de señalización MEK-ERK.

35 Por lo tanto, según realizaciones opcionales, un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos, tal como se describe en la presente memoria, efectúa dicha inhibición inhibiendo una ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK.

40 En la presente memoria, la frase "inhibir una ruta de señalización asociada a la actividad MEK-ERK" abarca cualquier inhibición de una proteína ERK, una proteína MEK, cualquier proteína activada por una ERK (p.ej., vía fosforilación por ERK), y cualquier proteína que active una MEK (p.ej., una MEK quinasa).

Los ejemplos de agentes que presentan actividad de inhibición de una ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK incluyen, sin limitación, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2 y un inhibidor de ERK1/2.

45 Cabe destacar que los anteriores inhibidores de la ruta de MEK-ERK también son inhibidores de las rutas de señalización de CD14 y TLR2, aunque son inhibidores relativamente no selectivos de las rutas de señalización de CD14 y TLR2.

En algunas realizaciones, el(los) agente(s) descrito(s) en la presente memoria no inhibe(n) la actividad de COX-1.

En algunas realizaciones, el(los) agente(s) descrito(s) en la presente memoria no inhibe(n) la actividad de COX-2.

En algunas realizaciones, el(los) agente(s) descrito(s) en la presente memoria no inhibe(n) la actividad de HMG-CoA reductasa.

En algunas realizaciones, el(los) agente(s) descrito(s) en la presente memoria no inhibe(n) la actividad de 12-LO (12-lipooxigenasa).

5 En algunas realizaciones, el(los) agente(s) descrito(s) en la presente memoria no inhibe(n) la actividad de receptor de TNF α .

En algunas realizaciones, el(los) agente(s) descrito(s) en la presente memoria no inhibe(n) la actividad de Lp-PLA2.

En algunas realizaciones, un agente que “no inhibe la actividad” de una proteína inhibe dicha actividad en menos de un 20 % a una concentración de 10 μ M del agente, y en algunas realizaciones, en menos del 10 %.

10 Tal como se ejemplifica en la presente memoria, la inhibición de la quimiotaxis de monocitos también está asociada a la inhibición de AKT.

Por lo tanto, según las realizaciones óptimas, un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos, tal como se describe en la presente memoria, efectúa dicha inhibición inhibiendo una ruta de señalización asociada a la actividad de PI3K-AKT.

15 En la presente memoria, la frase “inhibir una ruta de señalización asociada a la actividad de PI3K-AKT” abarca cualquier inhibición de PI3K, AKT o mTOR. Los ejemplos de agentes que presentan una actividad de inhibición de una ruta de señalización asociada a la actividad de PI3K-AKT incluyen, sin limitación, un inhibidor de PI3K (p.ej., tal como se describe en la presente memoria), un inhibidor de AKT (p.ej., tal como se describe en la presente memoria), y un inhibidor de mTOR (p.ej., tal como se describe en la presente memoria).

20 Cabe destacar que los anteriores inhibidores de la ruta PI3K-AKT también son inhibidores de las rutas de señalización de CD14 y TLR2, aunque son inhibidores relativamente no selectivos de las rutas de señalización de CD14 y TLR2.

En algunas realizaciones, un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos, tal como se describe en la presente memoria, no inhibe la quimiotaxis de células T.

25 En algunas realizaciones, un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos, tal como se describe en la presente memoria, no inhibe la quimiotaxis de ninguna célula que no sean monocitos.

Sin pretender establecer ninguna teoría particular, se cree que la inhibición específica de célula de la quimiotaxis de monocitos proporciona un efecto anti-inflamatorio terapéuticamente beneficioso, sin generar la inhibición no deseada de otras funciones biológicamente importantes.

30 En un ejemplo descrito en la presente memoria, el fosfolípido útil según la presente descripción se selecciona entre los descritos en las publicaciones de solicitud de patente internacional WO 2010/052718, WO 2010/041242, WO 2008/084472, WO 2004/106486 y WO 2002/041827.

En una realización, el fosfolípido oxidado es 1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina. En otra realización, el fosfolípido oxidado es (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina.

35 Según un aspecto de algunas realizaciones descritas en la presente memoria se proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos dos agentes, siendo los al menos dos agentes capaces de:

- a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14,
 - b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2,
- y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 Según un aspecto de algunas realizaciones descritas en la presente memoria se proporciona un kit que comprende al menos dos agentes capaces de:

- a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14,
- b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende al menos dos agentes.

45 Según un aspecto de algunas realizaciones descritas en la presente memoria, se proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos dos agentes, siendo los al menos dos agentes capaces de presentar al menos dos actividades seleccionadas del grupo que consiste en:

- a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14,
 - b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y
 - c) inhibir la quimiotaxis de monocitos,
- y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 Según un aspecto de algunas realizaciones descritas en la presente memoria, se proporciona un kit que comprende al menos dos agentes que presentan al menos dos actividades seleccionadas del grupo que consiste en:

- a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14,
- b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y
- c) inhibir la quimiotaxis de monocitos.

10 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende al menos dos agentes.

Según algunas realizaciones, uno de los al menos dos agentes es VB-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina).

15 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden además al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden además al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

20 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden además al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14.

25 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, y al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden además al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

30 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, y al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 y al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

35 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes se seleccionan del grupo que consiste en un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1, un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TRAM, un inhibidor de TRIF, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TRAF3, un inhibidor de RIP1, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de CD36, un inhibidor de secuestrador de receptor-A, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

50 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TRAM, un inhibidor de TRIF, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TRAF3, un inhibidor de RIP1, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un

inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de CD36, un inhibidor de secuestrador de receptor-A, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14, MR1007, IMG-2005, Pepinh-TRIF, IMG-2006, 15409, IMG-2002, necrostatina-1, 5Z-7-oxozeanol, BX-795, BMS-345541, AS-206868/SPC-839, tipifamib, salirasib, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, SP600125, CEP-1347, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, dilmapiomod, SCIO-469, SCIO-323, VX-702, VX-745, AMG-548, BIRB-796, SB203580, SB202190, RO4402257, RO3201195, PH-797804, AZD-6703, TAK-715, PS540446, RWJ-67657, KC706, ARRY-797, CC-401, AS600292, AS601245, AS602801, FR180204, olomoucina, celastrol, triptolide, LGD1550, SR 11302, tanshinona IIA, A-CREB, ciclosporina A, tacrolimus, XX-650-23, AG490, R788, pitavastatina, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), 4-hidroxinonenal, hexanal, 2,4-decadienal, GO:0035020, GO:0035021, GO:0035022, GO:0032314, Vav1, Vav2, Tiam1, toxina B de clostridium difficile, NSC23766, EHT 1864, estatinas, un anticuerpo anti-angiotensina, wortmannina, LY294002, IC187114, TG100-115, ZSTK474, PI-103, AR-12, PWT-458, PX-866, CAL-101, XL-147, GDC-0941, (NVP)-BEZ235, AS252424, TGX-221, XL-765, KP372-1, perifosina, triciribina, SR13668, AR-67, AR-42, GSK690693, A-443654, MK-2206, rapamicina, everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, AZD-8055, OSI-027, INK-128, PP-242, UCN-01, celecoxib, OSU-03012, (NVP)-BAG956, BX-912, BX-320, hialuronano, interleucina-1β (IL1β), y Bay11-7082.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el al menos un agente comprende un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en OPN-305, OPN-401, AP177, IMG-2005, IMG-2006, 15409, IMG-2002, 5Z-7-oxozeanol, BX-795, BMS-345541, AS-206868/SPC-839, tipifamib, salirasib, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, SP600125, CEP-1347, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, dilmapiomod, SCIO-469, SCIO-323, VX-702, VX-745, AMG-548, BIRB-796, SB203580, SB202190, RO4402257, RO3201195, PH-797804, AZD-6703, TAK-715, PS540446, RWJ-67657, KC706, ARRY-797, CC-401, AS600292, AS601245, AS602801, FR180204, olomoucina, celastrol, triptolide, LGD1550, SR 11302, tanshinona IIA, A-CREB, ciclosporina A, tacrolimus, XX-650-23, AG490, R788, GO:0035020, GO:0035021, GO:0035022, GO:0032314, Vav1, Vav2, Tiam1, toxina B de clostridium difficile, NSC23766, EHT 1864, estatinas, un anticuerpo anti-angiotensina, wortmannina, LY294002, IC187114, TG100-115, ZSTK474, PI-103, AR-12, PWT-458, PX-866, CAL-101, XL-147, GDC-0941, (NVP)-BEZ235, AS252424, TGX-221, XL-765, KP372-1, perifosina, triciribina, SR13668, AR-67, AR-42, GSK690693, A-443654, MK-2206, rapamicina, everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, AZD-8055, OSI-027, INK-128, PP-242, UCN-01, celecoxib, OSU-03012, (NVP)-BAG956, BX-912, BX-320, hialuronano, interleucina-1β (IL1β), y Bay11-7082.

Según algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, y el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, no inhibe la actividad de TLR5, TLR7 o TLR9.

Según algunas realizaciones, el al menos un agente comprende un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos y que no inhibe la quimiotaxis de células T.

Según algunas realizaciones, el al menos un agente comprende un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos, siendo efectuada la inhibición inhibiendo la ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes son capaces de presentar la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 y la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

5 Según algunas realizaciones, los al menos dos agentes son capaces de presentar la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

Según algunas realizaciones, los al menos dos agentes comprenden al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, y al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.

10 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden además al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, y al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

15 Según algunas realizaciones, los al menos dos agentes comprenden al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 y al menos un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos.

20 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes se seleccionan del grupo que consiste en un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1, un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TRAM, un inhibidor de TRIF, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TRAF3, un inhibidor de RIP1, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de CD36, un inhibidor de secuestrador de receptor-A, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

30 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TRAM, un inhibidor de TRIF, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TRAF3, un inhibidor de RIP1, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NFκB, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de CD36, un inhibidor de secuestrador de receptor-A, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

40 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP, un inhibidor de TRAM, y un inhibidor de TRIF.

45 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, y un inhibidor de LBP.

50 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14, MR1007, IMG-2005, Pepinh-TRIF, IMG-2006, 15409, IMG-2002, necrostatina-1, 5Z-7-oxozeanol, BX-795, BMS-345541, AS-206868/SPC-839, tipifamib, salirasib, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, SP600125, CEP-1347, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, dilmapiomod, SCIO-469, SCIO-323, VX-702, VX-745, AMG-548, BIRB-796, SB203580, SB202190, RO4402257, RO3201195, PH-797804, AZD-6703, TAK-715, PS540446, RWJ-67657, KC706, ARRY-797, CC-401, AS600292, AS601245, AS602801, FR180204, olomoucina, celastrol, triptolide, LGD1550, SR 11302, tanshinona IIA, A-CREB, ciclosporina A, tacrolimus, XX-650-23, AG490, R788, pitavastatina, ácido eicosapentaenoico

(EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), 4-hidroxi-nonenal, hexanal, 2,4-decadienal, GO:0035020, GO:0035021, GO:0035022, GO:0032314, Vav1, Vav2, Tiam1, toxina B de clostridium difficile, NSC23766, EHT 1864, estatinas, un anticuerpo anti-angiotensina, wortmannina, LY294002, IC187114, TG100-115, ZSTK474, PI-103, AR-12, PWT-458, PX-866, CAL-101, XL-147, GDC-0941, (NVP)-BEZ235, AS252424, TGX-221, XL-765, KP372-1, perifosina, tricitabina, SR13668, AR-67, AR-42, GSK690693, A-443654, MK-2206, rapamicina, everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, AZD-8055, OSI-027, INK-128, PP-242, UCN-01, celecoxib, OSU-03012, (NVP)-BAG956, BX-912, BX-320, hialuronano, interleucina-1 β (IL1 β), y Bay11-7082.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 se selecciona del grupo que consiste en TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14, MR1007, y Pepinh-TRIF.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o la ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 se selecciona del grupo que consiste en TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14, y MR1007.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1, un inhibidor de TLR6, un inhibidor de MyD88, un inhibidor de TIRAP, un inhibidor de IRAK1, un inhibidor de IRAK2, un inhibidor de IRAK4, un inhibidor de TRAF6, un inhibidor de TAB1, un inhibidor de TAB2, un inhibidor de TAK1, un inhibidor de IKK, un inhibidor de RAS, un inhibidor de RAF, un inhibidor de MKK3, un inhibidor de MKK6, un inhibidor de MLK, un inhibidor de MKK4, un inhibidor de MKK7, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2, un inhibidor de p38, un inhibidor de JNK, un inhibidor de ERK1/2, un inhibidor de NF κ B, un inhibidor de AP-1, un inhibidor de CREB, un inhibidor de IRF3, un inhibidor de IRF5, un inhibidor de BTK, un inhibidor de JAK2, un inhibidor de Syk, un inhibidor de Rac, un inhibidor de PI3K, un inhibidor de AKT, un inhibidor de mTORC1, un inhibidor de mTORC2, un inhibidor de PDK1, un activador de TNFAIP3, un activador de TANK, un activador de SHP-1, un activador de TOLLIP, y un activador de IRAK3.

Según algunas realizaciones, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1 y un inhibidor de TLR6.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden un agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, siendo seleccionado el agente del grupo que consiste en OPN-305, OPN-401, AP177, IMG-2005, IMG-2006, 15409, IMG-2002, 5Z-7-oxozeanol, BX-795, BMS-345541, AS-206868/SPC-839, tipifamib, salirasib, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, SP600125, CEP-1347, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, dilmapiomod, SCIO-469, SCIO-323, VX-702, VX-745, AMG-548, BIRB-796, SB203580, SB202190, RO4402257, RO3201195, PH-797804, AZD-6703, TAK-715, PS540446, RWJ-67657, KC706, ARRY-797, CC-401, AS600292, AS601245, AS602801, FR180204, olomoucina, celastrol, triptolide, LGD1550, SR 11302, tanshinona IIA, A-CREB, ciclosporina A, tacrolimus, XX-650-23, AG490, R788, GO:0035020, GO:0035021, GO:0035022, GO:0032314, Vav1, Vav2, Tiam1, toxina B de clostridium difficile, NSC23766, EHT 1864, estatinas, un anticuerpo anti-angiotensina, wortmannina, LY294002, IC187114, TG100-115, ZSTK474, PI-103, AR-12, PWT-458, PX-866, CAL-101, XL-147, GDC-0941, (NVP)-BEZ235, AS252424, TGX-221, XL-765, KP372-1, perifosina, tricitabina, SR13668, AR-67, AR-42, GSK690693, A-443654, MK-2206, rapamicina, everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, AZD-8055, OSI-027, INK-128, PP-242, UCN-01, celecoxib, OSU-03012, (NVP)-BAG956, BX-912, BX-320, hialuronano, interleucina-1 β (IL1 β), y Bay11-7082.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 se selecciona del grupo que consiste en OPN-305, OPN-401 y AP177.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos y que no inhibe la quimiotaxis de células T.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los al menos dos agentes comprenden un agente que presenta la actividad de inhibir la quimiotaxis de monocitos, siendo efectuada la inhibición inhibiendo una ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir una ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de RAF, un inhibidor de MEK1, un inhibidor de MEK2 y un inhibidor de ERK1/2.

Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, el agente que presenta la actividad de inhibir una ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK se selecciona del grupo que consiste en BMS-214662, RAF265,

XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, FR180204, y olomoucina.

5 Según algunas realizaciones, la composición se identifica para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio.

Según algunas realizaciones, la composición se empaqueta en un material de envase y se identifica en una imprenta, dentro o sobre el material de envase, para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio.

Según algunas realizaciones, cada uno de los al menos dos agentes es envasado individualmente dentro del kit.

Según algunas realizaciones, el kit se identifica para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio.

10 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, la enfermedad o trastorno inflamatorio se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad o trastorno inflamatorio idiopático, una enfermedad o trastorno inflamatorio crónico, una enfermedad o trastorno inflamatorio agudo, una enfermedad o trastorno infeccioso, una enfermedad o trastorno maligno inflamatorio, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con un trasplante, una enfermedad o trastorno inflamatorio degenerativo, una enfermedad o trastorno inflamatorio asociado a una hipersensibilidad, una
15 enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio periférico, una enfermedad o trastorno inflamatorio glandular, una enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal, una enfermedad o trastorno inflamatorio cutáneo, una enfermedad o trastorno inflamatorio hepático, una enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico, una enfermedad o trastorno inflamatorio músculo-esquelético, una enfermedad o trastorno inflamatorio renal, una enfermedad o trastorno inflamatorio reproductor, una enfermedad o trastorno inflamatorio sistémico, una enfermedad o trastorno inflamatorio de tejido
20 conectivo, un tumor inflamatorio, necrosis, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con implante, un proceso de envejecimiento inflamatorio, una enfermedad o trastorno de inmunodeficiencia, una enfermedad o trastorno proliferativo y una enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar.

25 Según algunas realizaciones descritas en la presente memoria, la enfermedad o trastorno inflamatorio se selecciona del grupo que consiste en aterosclerosis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, esclerosis múltiple y psoriasis.

Las enfermedades autoinmunes/inflamatorias crónicas representativas incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos inflamatorios idiopáticos, enfermedades o trastornos inflamatorios crónicos, enfermedades o trastornos inflamatorios agudos, enfermedades o trastornos inflamatorios autoinmunes, enfermedades o trastornos inflamatorios infecciosos, enfermedades o trastornos inflamatorios malignos, enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con trasplantes, enfermedades o trastornos inflamatorios degenerativos, enfermedades o trastornos inflamatorios asociados con una hipersensibilidad, enfermedades o trastornos inflamatorios cardiovasculares (p.ej., tal como se describe en la presente memoria), enfermedades o trastornos inflamatorios cerebrovasculares, enfermedades o trastornos inflamatorios vasculares periféricos, enfermedades o trastornos inflamatorios glandulares, enfermedades o trastornos inflamatorios gastrointestinales, enfermedades o trastornos inflamatorios cutáneos, enfermedades o trastornos inflamatorios hepáticos, enfermedades o trastornos inflamatorios neurológicos, enfermedades o trastornos inflamatorios músculo-esqueléticos, enfermedades o trastornos inflamatorios renales, enfermedades o trastornos inflamatorios reproductores, enfermedades o trastornos inflamatorios sistémicos, enfermedades o trastornos inflamatorios de tejido conectivo, tumores inflamatorios, necrosis, enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con implantes, procesos inflamatorios de envejecimiento, enfermedades o trastornos de inmunodeficiencia, enfermedades o trastornos proliferativos, y enfermedades o trastornos inflamatorios pulmonares.

45 Los ejemplos no limitativos de hipersensibilidades incluyen la hipersensibilidad de Tipo I, la hipersensibilidad de Tipo II, la hipersensibilidad de Tipo III, la hipersensibilidad de Tipo IV, la hipersensibilidad inmediata, la hipersensibilidad mediada por anticuerpos, la hipersensibilidad mediada por complejo inmune, la hipersensibilidad mediada por linfocitos T, la hipersensibilidad de tipo retardado, la hipersensibilidad mediada por linfocitos T colaborador, la hipersensibilidad mediada por linfocito T citotóxico, la hipersensibilidad mediada por linfocito TH1, y la hipersensibilidad mediada por linfocito TH2.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos cerebrovasculares incluyen apoplejía, inflamación cerebrovascular, hemorragia cerebral e insuficiencia arterial vertebral.

50 Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos vasculares periféricos incluyen gangrena, vasculopatía diabética, enfermedad de intestino isquémico, trombosis, retinopatía diabética y nefropatía diabética.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos autoinmunes incluyen todas las enfermedades causadas por una respuesta inmune tal como una inmunidad mediada por autoanticuerpos o células frente a un autoantígeno, y similares. Los ejemplos representativos son la artritis reumatoide crónica, la artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico, escleroderma, enfermedad de tejido conectivo mixta, poliarteritis nodosa, polimiositis/dermatomiositis, síndrome de Sjogren, síndrome de Bechet, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, enfermedad de Hashimoto, psoriasis, mixedema primario, anemia perniciosa, miastenia grave, hepatitis crónica activa,

anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática, uveítis, vasculitis y trombocitopenia inducida por heparina.

5 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios glandulares incluyen enfermedades y trastornos pancreáticos, diabetes de Tipo I, enfermedades o trastornos de tiroides, enfermedad de Graves, tiroiditis, tiroiditis autoinmune espontánea, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopática, autoinmunidad de ovario, infertilidad anti-esperma autoinmune, prostatitis autoinmune y síndrome poliglandular autoinmune de Tipo I.

10 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios gastrointestinales incluyen colitis, ileítis, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria crónica, síndrome de intestino inflamatorio, síndrome de intestino inflamatorio, enfermedad celíaca, colitis ulcerativa, una úlcera, una úlcera cutánea, una escara, una úlcera gástrica, una úlcera péptica, una úlcera bucal, una úlcera nasofaríngea, una úlcera esofágica, una úlcera duodenal y una úlcera gastrointestinal.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios cutáneos incluyen acné, una enfermedad cutánea bullosa autoinmune, pénfigo vulgar, penfigoide bulloso, pénfigo foliáceo, dermatitis de contacto y erupción por fármaco.

15 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios hepáticos incluyen hepatitis autoinmune, cirrosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), y cirrosis biliar.

20 Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos inflamatorios neurológicos incluyen esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, miastenia grave, neuropatía motora, síndrome de Guillain-Barre, neuropatía autoinmune, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, enfermedad o trastorno neurológico paraneoplásico, atrofia cerebelar paraneoplásica, síndrome de hombre rígido no paraneoplásico, atrofia cerebelar progresiva, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydenham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatía autoinmune, neuropatía desinmune, neuromiotonia adquirida, artrogriposis múltiple, enfermedad de Huntington, demencia asociada a SIDA, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis múltiple, apoplejía, una enfermedad o trastorno inflamatorio retinal, una enfermedad o trastorno inflamatorio ocular, neuritis óptica, encefalopatía espongiiforme, migraña, cefalea, cefalea en racimos, y síndrome del hombre rígido.

30 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios de tejido conectivo incluyen miositis autoinmune, síndrome de Sjogren primario, enfermedad o trastorno autoinmune de músculo liso, miositis, tendinitis, una inflamación de ligamento, condritis, una inflamación articular, una inflamación sinovial, síndrome del túnel carpiano, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, una inflamación esquelética, una enfermedad o trastorno autoinmune del oído, y una enfermedad o trastorno autoinmune del oído interno.

Los ejemplos no limitativos de enfermedad o trastornos inflamatorios renales incluyen nefritis intersticial autoinmune y/o cáncer renal.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios reproductivos incluyen pérdida fetal repetida, quiste de ovario, o una enfermedad o trastorno asociado a la menstruación.

35 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios sistémicos incluyen lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, choque séptico, síndrome de choque tóxico, y caquexia.

40 Los ejemplos no limitativos de enfermedad o trastorno infeccioso incluyen enfermedades o trastornos infecciosos crónicos, una enfermedad o trastorno infeccioso subagudo, una enfermedad o trastorno infeccioso agudo, una enfermedad o trastorno vírico, una enfermedad o trastorno bacteriano, una enfermedad o trastorno de protozoos, una enfermedad o trastorno parasitario, una enfermedad o trastorno micoplasmático, gangrena, sepsis, una enfermedad o trastorno de prion, gripe, tuberculosis, malaria, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, y síndrome respiratorio agudo severo.

45 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con trasplantes incluyen rechazo a injerto, rechazo a injerto crónico, rechazo a injerto subagudo, rechazo a injerto agudo, rechazo a injerto hiperagudo, y enfermedad o trastorno de injerto contra hospedante. Los ejemplos de implantes incluyen un implante protésico, un implante de mama, un implante de silicona, un implante dental, un implante de pene, un implante cardíaco, una articulación artificial, un dispositivo de reparación de fractura ósea, un implante de sustitución ósea, un implante de administración de fármaco, un catéter, un marcapasos, un corazón artificial, una válvula de corazón artificial, un implante de liberación de fármaco, un electrodo, y un tubo respirador.

50 Los ejemplos no limitativos de tumores inflamatorios incluyen un tumor maligno, un tumor benigno, un tumor sólido, un tumor metastásico y un tumor no sólido.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos inflamatorios pulmonares incluyen asma, asma alérgico, enfisema, enfermedad o trastorno pulmonar obstructivo crónico, sarcoidosis, bronquitis, y fibrosis pulmonar (p.ej., fibrosis pulmonar idiopático [IPF]).

Un ejemplo de una enfermedad o trastorno proliferativo es cáncer.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y/o científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado entendido habitualmente por los especialistas en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria al llevar a la práctica o a ensayo las realizaciones de la invención, a continuación se describen ejemplos de métodos y/o materiales. En caso de conflicto, la especificación de la patente, que incluye definiciones, prevalecerá. Adicionalmente, los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no se pretende que sean necesariamente limitativos.

El término "profármaco" se refiere a un agente, que se convierte en el compuesto activo (el fármaco activo original) *in vivo*. Los profármacos son útiles habitualmente para facilitar la administración del fármaco original. Por ejemplo, pueden ser biodisponibles por administración oral, aunque el fármaco no lo sea. El profármaco también puede presentar una solubilidad mejorada en comparación con el fármaco original en composiciones farmacéuticas. Los profármacos a menudo se usan también para alcanzar una liberación sostenida del compuesto activo *in vivo*. Un ejemplo, sin limitación, de un profármaco sería un compuesto como se describe en la presente memoria, que presenta uno o más grupos funcionales de ácido carboxílico, que se administra en la forma de un éster (el "profármaco"). Dicho profármaco se hidroliza *in vivo*, para proporcionar de este modo el compuesto libre (el fármaco original). El éster seleccionado puede afectar tanto a las características de solubilidad como a la velocidad de hidrólisis del profármaco.

La frase "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una especie cargada del compuesto original y a su contraión, que se usa típicamente para modificar las características de solubilidad del compuesto original y/o para reducir cualquier irritación significativa en un organismo debida al compuesto original, sin eliminar la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. Un ejemplo, sin limitación, de una sal farmacéuticamente aceptable sería un anión de carboxilato y un catión tal como, aunque sin limitación, amonio, sodio, potasio y similares.

El término "solvato" se refiere a un complejo de estequiometría variable (p.ej., di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, etc.), que se forma mediante un soluto (el compuesto de las presentes realizaciones) y un disolvente, en donde el disolvente no interfiere con la actividad biológica del soluto. Los disolventes adecuados incluyen, por ejemplo, etanol, ácido acético y similares.

El término "hidrato" se refiere a un solvato, tal como se ha definido previamente, en donde el disolvente es agua.

Las presentes realizaciones abarcan además cualquier enantiómero, diastereómero, sales farmacéuticamente aceptables, profármacos (descritos en la presente memoria), hidratos y solvatos del compuesto VB-201.

VB-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina) según las realizaciones de la presente invención puede ser un enantiómero quiral de 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina, es decir, bien el enantiómero (*R*) ((*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-*sn*-glicerol-3-fosfocolina) o el enantiómero (*S*) ((*S*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina), o una mezcla de los mismos (p.ej., un racemato). Según los ejemplos de realizaciones, VB-201 es (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-*sn*-glicerol-3-fosfocolina.

Tal como se discute en la presente memoria, CD14 y TLR2 se unen cada uno de forma natural a compuestos que comprenden al menos un resto de ácido graso (p.ej., mediante un bolsillo hidrofóbico).

En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, un agente capaz de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, un agente capaz de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y/o un agente capaz de presentar ambas actividades, es un compuesto que comprende un resto lipídico, tal como, por ejemplo, un grupo funcional de ácido graso o un resto de hidrocarburo (p.ej., que comprende una cadena de al menos 10 átomos de carbono).

Los agentes adecuados para inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y/o inhibir la quimiotaxis de monocitos serán conocidos por el especialista en la técnica, particularmente a la luz de las conocimientos proporcionados en la presente memoria.

Los ejemplos de agentes que presentan la actividad de inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, que pueden usarse en realizaciones descritas en la presente memoria, incluyen, sin limitación, TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14, MR1007, IMG-2005, Pepinh-TRIF, IMG-2006, 15409, IMG-2002, necrostatina-1, 5Z-7-oxozeanol, BX-795, BMS-345541, AS-206868/SPC-839, tipifarnib, salirasib, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, SP600125, CEP-1347, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, dilmapiomod, SCIO-469, SCIO-323, VX-702, VX-745, AMG-548, BIRB-796, SB203580, SB202190, RO4402257, RO3201195, PH-797804, AZD-6703, TAK-715, PS540446, RWJ-67657, KC706, ARRY-797, CC-401, AS600292, AS601245, AS602801, FR180204, olomoucina, celastrol, triptolide, LGD1550, SR 11302, tanshinona IIA, A-CREB, ciclosporina A, tacrolimus, XX-650-23, AG490, R788, pitavastatina, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), 4-hidroxinonenal, hexanal, 2,4-decadienal, GO:0035020, GO:0035021, GO:0035022, GO:0032314, Vav1, Vav2, Tiam1, toxina B de clostridium difficile, NSC23766, EHT 1864, estatinas, un anticuerpo anti-angiotensina, wortmannina,

LY294002, IC187114, TG100-115, ZSTK474, PI-103, AR-12, PWT-458, PX-866, CAL-101, XL-147, GDC-0941, (NVP)-BEZ235, AS252424, TGX-221, XL-765, KP372-1, perifosina, triciribina, SR13668, AR-67, AR-42, GSK690693, A-443654, MK-2206, rapamicina, everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, AZD-8055, OSI-027, INK-128, PP-242, UCN-01, celecoxib, OSU-03012, (NVP)-BAG956, BX-912, BX-320, hialuronano, interleucina-1 β (IL1 β), y Bay11-7082. Los ejemplos de agentes relativamente selectivos para inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14 incluyen, sin limitación, TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14, MR1007 y Pepinh-TRIF.

En algunas realizaciones, el agente se selecciona del grupo que consiste en TAK-242, eritoran, E5531, CRX-526, NI0101, VIPER, AV411, 1A6, RP105, anticuerpo monoclonal IC14 y MR1007.

Los ejemplos de agentes que presentan la actividad de inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, que pueden usarse en las realizaciones descritas en la presente memoria incluyen, sin limitación, OPN-305, OPN-401, AP177, IMG-2005, IMG-2006, 15409, IMG-2002, 5Z-7-oxozeanol, BX-795, BMS-345541, AS-206868/SPC-839, tipifamib, salirasib, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, SP600125, CEP-1347, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, dilmapimod, SCIO-469, SCIO-323, VX-702, VX-745, AMG-548, BIRB-796, SB203580, SB202190, RO4402257, RO3201195, PH-797804, AZD-6703, TAK-715, PS540446, RWJ-67657, KC706, ARRY-797, CC-401, AS600292, AS601245, AS602801, FR180204, olomoucina, celastrol, triptolide, LGD1550, SR 11302, tanshinona IIA, A-CREB, ciclosporina A, tacrolimus, XX-650-23, AG490, R788, GO:0035020, GO:0035021, GO:0035022, GO:0032314, Vav1, Vav2, Tiam1, toxina B de clostridium difficile, NSC23766, EHT 1864, estatinas, un anticuerpo anti-angiotensina, wortmannina, LY294002, IC187114, TG100-115, ZSTK474, PI-103, AR-12, PWT-458, PX-866, CAL-101, XL-147, GDC-0941, (NVP)-BEZ235, AS252424, TGX-221, XL-765, KP372-1, perifosina, triciribina, SR13668, AR-67, AR-42, GSK690693, A-443654, MK-2206, rapamicina, everolimus, temsirolimus, ridaforolimus, AZD-8055, OSI-027, INK-28, PP-242, UCN-01, celecoxib, OSU-03012, (NVP)-BAG956, BX-912, BX-320, hialuronano, interleucina-1 β (IL1 β), y Bay11-7082. Los ejemplos de agentes relativamente selectivos para inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2 incluyen, sin limitación, OPN-305, OPN-401 y AP177.

Los ejemplos de agentes que presentan una actividad de inhibir una ruta de señalización asociada a la actividad de MEK-ERK, que pueden usarse en las realizaciones descritas en la presente memoria, por ejemplo, como inhibidores de la quimiotaxis de monocitos incluyen, sin limitación, sorafenib, BMS-214662, RAF265, XL281, AAL-881, LBT-613, SB-590885, PLX-4720, PLX-4032, L-779,450, GW5074, SB-699393, U0126, GSK1120212, PD184352, PD-0325901, XL518, selumetinib, RDEA119, PD098059, SL-327, ARRY-438162, FR180204 y olomoucina.

1A6 es un anticuerpo monoclonal que es un antagonista de TLR4, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

5Z-7-oxozeanol (CAS n° 253863-19-3) es un inhibidor irreversible competitivo de ATP de ERK2, TAK1 y MEK1, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TAK1 y/o como inhibidor de ERK2, y/o como inhibidor de MEK1, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

A-443654 ((2S)-1-(1H-indol-3-il)-3-[5-(3-metil-2H-indazol-5-il)piridin-3-il]oxipropan-2-amina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

AAL-881, una isoquinolina, es un inhibidor de molécula pequeña de la actividad Raf [Khazak et al., Expert Opin Ther Targets 2007, 11: 1587-1609; Sathomsurnetee et al., Cancer Res 2006, 66: 8722-8730], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

A-CREB puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CREB.

AG490 ((E)-2-ciano-3-(3,4-dihidrofénil)-N-(fenilmetil)-2-propenamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de JAK2.

AMG-548 (desarrollado por Amgen Inc.), es conocido en la técnica por inhibir p38 [Dominguez et al., Curr Opin Drug Discov Devel 2005, 8: 421-430; Verkaar et al., Chem Biol 2011, 18: 485-494] y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

Se puede usar opcionalmente un anticuerpo anti-angiotensina en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Rac.

Se puede usar opcionalmente un anticuerpo anti-LBP (p.ej., el clon biG 412, de Cell Sciences) en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de LBP.

AP177 es un aptámero que se une específicamente a TLR2 [Chang et al., FASEB J 2009, 23: 3078-3088], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR2.

AR-12 (2-amino-N-(4-(5-(fenatren-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)fenil)acetamida), también denominado en la técnica OSU-03012, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K y/o como inhibidor de AKT y/o como inhibidor de PDK1.

5 AR-42 (N-[4-[(hidroxiamino)carbonil]fenil]- α S-(1-metiletil)-bencenoacetamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

AR-67 (7-terc-butildimetilsilil-10-hidroxicamptotecina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

10 ARRY-438162, un inhibidor de MEK1/2 desarrollado por Array BioPharma, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

ARRY-797, desarrollado por Array BioPharma, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

15 AS-206868 (1-[[5-metoxi-2-(2-tienil)-4-quinazolinil]amino]-3-metil-1H-pirrol-2,5-diona), también conocido en la técnica como SPC 839, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de IKK.

AS252424 (5-[5-(4-fluoro-2-hidroxi-fenil)-furan-2-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

AS600292 (N-((5-(4-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-il)piperidin-1-ilsulfonil)tiofen-2-il)metil)-4-clorobenzamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de JNK.

20 AS601425 (1,3-benzotiazol-2-il-(2-[[2-(3-piridinil)etil]amino]-4-pirimidinil]acetónitrilo) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de JNK.

AS602801 (2-(1,3-benzotiazol-2-il)-2-[2-((4-((morfolin-4-il)metil)fenil)metoxi)pirimidin-4-il]acetónitrilo) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de JNK.

25 AV411 (2-metil-1-(2-propan-2-ilpirazolo[1,5-a]piridin-3-il)propan-1-ona), también conocido en la técnica como ibudilast, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

AZD-6703 es conocido en la técnica por inhibir p38 [Coulthard et al., Trends Mol Med 2009, 15: 369-379] puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

AZD-6703 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

30 AZD-8055 ((5-(2,4-bis((3S)-3-metilmorfolin-4-il)pirido(2,3-d)pirimidin-7-il)-2-metoxifenil)metanol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

Bay11-7082 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de IKK.

35 BIRB-796 (N-(3-(1,1-dimetiletil)-1-(4-metilfenil)-1H-pirazol-5-il)-N'-[4-(2-(4-morfolinil)etoxi)-1-naftalenil]-urea), también conocido como doramapimod, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

40 BMS-214662 ((R)-7-ciano-2,3,4,5-tetrahidro-1-(1H-imidazol-4-ilmetil)-3-(fenilmetil)-4-(2-tienilsulfonil)-1H-1,4-benzodiazepina) es un derivado de benzodiazepina que inhibe la farnesilación de Ras, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Ras.

BMS-345541 (4(2'-aminoetil)amino-1,8-dimetilimidazo(1,2-a)quinoxalina) es conocido en la técnica como inhibidor de las subunidades catalíticas de IKK, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de IKK.

45 BX-320, que es conocido en la técnica como inhibidor de PDK-1 [Feldman et al., *J Biol Chem* 2005, 280: 19867-19874], puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PDK1.

BX-795 (N-(3-((5-iodo-4-((3-(2-tienilcarbonil)amino)propil]amino)-2-pirimidinil]amino]fenil)-1-pirrolidinacarboxamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de IKK y/o como inhibidor de PDK1.

50 BX-912 (N-(3-(4-(2-(1H-imidazol-4-il)etilamino)-5-bromopirimidin-2-ilamino)fenil)pirrolidina-1-carboxamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PDK1.

CAL-101 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

CC-401, que es conocido en la técnica como inhibidor de JNK [Uehara et al., *Transplantation* 2004, 15: 324-332] puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de JNK.

5 Celastrol (ácido (9 β ,13 α ,14 β ,20 α)-3-hidroxi-9,13-dimetil-2-oxo-24,25,26-trinoroleana-1(10),3,5,7-tetraen-29-oico) es un triterpenoide quinona metide, que puede aislarse de *Tripterygium wilfordii* (viña Trueno de Dios) y de *Celastrus regellii*, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de NF κ B.

10 Celecoxib (4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)pirazol-1-il]bencenosulfonamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PDK1. CEP-1347 (3,9-bis((etiltio)metil)-K252a), también conocido en la técnica como KT7515, es un derivado del alcaloide K252a ((9S-(9 α ,10 β ,12 α))-2,3,9,10,11,12-hexahidro-10-hidroxi-10-(metoxicarbonil)-9-metil-9,12-epoxi-1H-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-kl]pirrolo[3,4-il][1,6]benzodiazocin-1-ona), y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MLK, como inhibidor de MKK4 y/o como inhibidor de MKK7.

La toxina B de *Clostridium difficile* (p.ej., MMDB ID 34928) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Rac.

15 CRX-526 es una especie mimética de lípido A conocida en la técnica como antagonista de TLR4 [Fort et al., *J Immunol* 2005, 15: 6416-6423], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

Ciclosporina A puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CREB.

20 2,4-Decadienal (DDE) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD36.

Dilmapiomod (8-(2,6-difluorofenil)-2-[(1,3-dihidroxiopropan-2-il)amino]-4-(4-fluoro-2-metilfenil)pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona), también conocido en la técnica como SB-681323 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

25 Ácido docosahexaenoico (DHA) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD36.

E5531 es un derivado no tóxico de lípido A [Kawata et al., *Br J Pharmacol* 1999, 127: 853-862], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

30 EHT 1864 (5-(5-(7-(trifluorometil)quinolin-4-iltio)pentiloxi)-2-(morfolinometil)-4H-piran-4-ona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Rac.

Ácido eicosapentaenoico (EPA) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD36.

Eritoran (también conocido en la técnica como E5564) es un compuesto estructuralmente similar al LPS, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

35 Everolimus es un derivado de sirolimus (rapamicina), y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

FR180204 (5-(2-fenilpirazolo[1,5-a]piridin-3-il)-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-3-amina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de ERK1/2, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

40 GDC-0941 (2-(1H-indazol-4-il)-6-(4-metanosulfonil-piperazin-1-ilmetil)-4-morfolin-4-il-tieno[3,2-d]pirimidina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

45 GSK1120212 (N-[3-[3-ciclopropil-5-[(2-fluoro-4-iodofenil)amino]-3,4,6,7-tetrahidro-6,8-dimetil-2,4,7-trioxopirido[4,3-d]pirimidin-1(2H)-il]fenil]acetamida), también conocido en la técnica como JTP-74057, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

GSK690693 (4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-((3S)-3-piperdinilmetoxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

50 GW5074 (3-(3,5-dibromo-4-hidroxi-bencilideno)-5-iodo-1,3-dihidro-indol-2-ona) es un ejemplo de inhibidor de Raf, y más particularmente, un ejemplo de inhibidor de Raf para inhibir la ruta MEK-ERK.

Hexanal puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD36.

Hialuronano puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como activador de IRAK3 (p.ej., mediante estabilización de IRAK3).

5 4-Hidroxinonenal (4-hidroxi-2-nonenal) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD36.

15409 (1-(2-(4-morfolinil)etil)-2-(3-nitrobenzoilamino)benzimidazol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de IRAK1 y/o como inhibidor de IRAK4.

10 Anticuerpo monoclonal IC14 es un anticuerpo anti-CD14 [Verbon et al., *J Immunol* 2001, 168: 3599-3605; Verbon et al., *J Infect Dis* 2003, 187: 55-61], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD14.

IC187114 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

IMG-2002 (que puede obtenerse de Imgenex) es un péptido (SEQ ID NO: 1) conocido en la técnica como inhibidor de TRAF6 [Ye et al., *Nature* 2002, 418: 443-447], y que puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TRAF6.

15 IMG-2005 (que puede obtenerse de Imgenex) es un péptido (SEQ ID NO: 2) conocido en la técnica como inhibidor de la homodimerización de MyD88 [Brown y McIntyre, *J Immunol* 2011, 186: 5489-5496; Siednienko et al., *J Immunol* 2011, 186: 2514-2522]. IMG-2005 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MyD88.

20 IMG-2006 (que puede obtenerse de Imgenex) es un péptido (SEQ ID NO: 3) conocido en la técnica como inhibidor de la unión de TIRAP a TLR2 y TLR4 [Liang et al., *J Biol Chem* 2007, 282: 7532-7542; Scott y Billiar, *J Biol Chem* 2008, 283: 29433-29446]. IMG-2006 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TIRAP.

25 INK-128, que es conocido en la técnica como inhibidor de mTORC [Schenone et al., *Curr Med Chem* 2011, 2995-3014], puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

Interleuquina-1 β (IL1 β) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como activador de IRAK3 (p.ej., por inducción de IRAK3).

KC706 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

30 KP372-1 (CAS n $^{\circ}$ 329710-24-9) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT y/o como inhibidor de PDK1.

L-779,450 (2-cloro-5-[2-fenil-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-4-il]fenol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

35 LBT-613, una isoquinolina, es un inhibidor de molécula pequeña de la actividad de Raf [Ouyang et al., *Clin Cancer Res* 2006, 12: 1785-1793; Hjelmeland et al., *Mol Cancer Ther* 2007, 6: 2449-2457], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.

LGD1550 (ácido (2E,4E,6E)-3-metil-7-(3,5-di-terc-butilfenil)octatrienoico) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AP-1.

40 Lonafarnib (4-(2-(4-(8-cloro-3,10-dibromo-6,11-dihidro-5H-benzo(5,6)ciclohepta(1,2-b)piridin-11-il)-1-piperidinil)-2-oxoetil)-1-piperidinecarboxamida) inhibe la actividad de Ras inhibiendo la actividad de farnesiltransferasa, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Ras.

LY294002 (2-(4-morfolinil)-8-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

45 MK-2206 (CAS n $^{\circ}$ 1032350-13-2) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

MR1007 es una proteína de fusión que comprende un anticuerpo anti-CD14 y una cadena ligera de inhibidor de inter- α -tripsina [Nakamura et al., *Critical Care* 2007, 11 (Supl. 4): P4; Nakamura et al., *Critical Care* 2008, 12 (Supl. 2): P194], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD14.

50 NI0101 es un anticuerpo monoclonal anti-TLR4 humano, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

- Necrostatina-1 (5-(1H-indol-3-ilmetil)-3-metil-2-tioxo-4-imidazolidinona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de RIP1.
- NSC23766 (N6-[2-[[4-(dietilamino)-1-metilbutil]amino]-6-metil-4-pirimidinil]-2-metil-4,6-quinolinediamina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Rac.
- 5 (NVP)-BAG956 (2-metil-2-[4-(2-metil-8-piridin-3-iletinil-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PDK1.
- (NVP)-BEZ235 (2-metil-2-{4-[3-metil-2-oxo-8-(quinolin-3-il)-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-1-il]fenil}propanonitrilo) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.
- 10 Olomoucina (6-(bencilamino)-2-(2-hidroxi-etilamino)-9-metilpurina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de ERK1/2, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.
- OPN-305 es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado contra TLR2 [Hennessy et al. *Nat Rev Drug Discov* 2010, 9: 293-307], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR2.
- 15 OPN-401 es un péptido derivado de una proteína viral [Hennessy et al. *Nat Rev Drug Discov* 2010, 9: 293-307], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR2.
- OSI-027 (ácido 4-(4-amino-5-(7-metoxi-1H-indol-2-il)imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-7-il)ciclohexanocarboxílico) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.
- 20 PD-0325901 (N-[(2R)-2,3-dihidroxi-propoxi]-3,4-difluoro-2-[(2-fluoro-4-iodofenil)amino]-benzamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.
- PD098059 (2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-1-benzopirano-4-ona) inhibe la actividad de MEK, particularmente la actividad de MEK1, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta MEK-ERK.
- 25 PD184352 (2-(2-cloro-4-iodofenilamino)-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida), también conocido en la técnica como CI-2040, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.
- 30 Pepinh-TRIF es un péptido (SEQ ID NO: 4) conocido en la técnica por interferir con las interacciones TLR-TRIF [Toshchakov et al., *J Immunol* 2005, 175: 494-500], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TRIF.
- Perifosina puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT y/o como inhibidor de PI3K.
- 35 PH-797804 ([3-[3-bromo-4-[(2,4-difluorofenil)metoxi]-6-metil-2-oxo-1(2H)-piridinil]-N,4-dimetil]benzamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.
- PI-103 (3-[4-(4-morfolinil)pirido[3',2':4,5]furo[3,2-d]pirimidin-2-il]-fenol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.
- Pitavastatina (una estatina; ácido (3R,5S,6E)-7-[2-ciclopropil-4-(4-fluorofenil)quinolin-3-il]-3,5-diidroxihex-6-enoico) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CD36.
- 40 PLX-4032 (N-(3-(5-(4-clorofenil)-1H-pirrol-2,3-b)piridina-3-carbonil)-2,4-difluorofenil)propano-1-sulfonamida, también conocido en la técnica como vemurafenib, inhibe la actividad de Raf, particularmente la actividad de B-Raf, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente como inhibidor para inhibir la ruta de MEK-ERK.
- 45 PLX-4720 (N-(3-(5-cloro-1H-pirrol-2,3-b)piridina-3-carbonil)-2,4-difluorofenil)propano-1-sulfonamida es un derivado de 7-azaindol que inhibe Raf, particularmente B-Raf, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente como inhibidor para inhibir la ruta de MEK-ERK.
- PP-242 (2-(4-amino-1-isopropil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il)-1H-indol-5-ol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.
- 50 PS540446 (4-(5-(ciclopropilcarbamoil)-2-metilfenilamino)-5-metil-N-propilpirrol[1,2-f][1,2,4]triazina-6-carboxamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

PWT-458 (17β-hidroxi-11-(acetiloxi)-1S,6bR,7,8,9aS,10,11R,11bR-octahidro-1-(metoximetil)-9a,11b-dimetil-3H-furo[4,3,2-de]indeno[4,5-h]-2-benzopiran-3,6,9-triona), un derivado de wortmannina PEGilada, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

PX-866 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

5 R788 ([6-({5-fluoro-2-[(3,4,5-trimetoxifenil)amino]pirimidin-4-il}amino)-2,2-dimetil-3-oxo-2,3-dihidro-4H-pirido[3,2-b][1,4]oxazin-4-il]metilfosfato), también conocido en la técnica como fostamatinib, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Syk.

10 RAF265 (1-metil-5-(2-(4-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)piridin-4-iloxi)-N-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-2-amina) es un inhibidor de Raf desarrollado por Novartis, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente como inhibidor de Raf para inhibir la ruta de MEK-ERK.

Rapamicina, también conocida en la técnica como sirolimus, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

15 RDEA119 (N-(3,4-difluoro-2-(2-fluoro-4-iodofenilamino)-6-metoxifenil)-1-(2,3-dihidroxiopropil)ciclopropano-1-sulfonamida), también conocido en la técnica como BAY-869766, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

Ridaforolimus puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

20 RO3201195 (S-[5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il]-[3-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil]metanona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

RO4402257 (6-(2,4-difluorofenoxi)-2-[3-hidroxi-1-(2-hidroxietil)propilamino]-8-metil-8H-pirido[2,3-d]pirimidin-7-ona), también conocido en la técnica como pamapimod, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

25 RP105 es un homólogo de TLR que carece de un dominio de señalización [Divanovic et al., *Nat Immunol* 2005, 6: 571-578]. RP105 interactúa con el complejo TLR4-MD2, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4 y/o como inhibidor de MD-2.

RWJ-67657 (4-[4-(4-fluorofenil)-1-(3-fenilpropil)-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-2-il]-3-butin-1-ol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

30 Salirasib (ácido S-farnesiltiosalicílico) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Ras.

SB202190 (4-[4-(4-fluorofenil)-5-(4-piridinil)-1H-imidazol-2-il]fenol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

35 SB203580 (4-[5-(4-fluorofenil)-2-[4-(metilsulfonil)fenil]-1H-imidazol-4-il]piridina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

SB-590885 (N,N'-dimetil-2-4-(4Z)-4-(1-nitroso-2,3-dihidroinden-5-iliden)-5-(1H-piridin-4-ilideno)-1H-imidazol-2-il]fenoxi]etanamina) inhibe la actividad de Raf, particularmente la actividad de B-Raf, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

40 SB-699393 (4-[[4E)-4-(1-nitroso-2,3-dihidroinden-5-ilidene)-5-(1H-piridin-4-ilideno)furan-2-il]metil]morfolina) inhibe la actividad de Raf, particularmente la actividad de B-Raf, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

45 SCIO-323, un inhibidor desarrollado por Scios Inc. y Johnson & Johnson [Dominguez et al., *Curr Opin Drug Discov Devel* 2005, 8: 421-430], puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

SCIO-469 (6-cloro-5-[[2R,5S)-4-[(4-fluorofenil)metil]-2,5-dimetil-1-piperazinil]carbonil]-N,N,1-trimetil-α-oxo-1H-indol-3-acetamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

50 Selumetinib (6-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-7-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-3-metilbencimidazol-5-carboxamida), también conocido en la técnica como AZD6244 y ARRY-142886, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas

en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

5 SL-327 (α -[amino[(4-aminofenil)tio]metileno]-2-(trifluorometil)benconoacetonitrilo) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

Sorafenib (4-(4-(3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)ureido)fenoxi)-N-metilpicolinamida) es un inhibidor de Raf, particularmente C-Raf, y está dirigido a la ruta Raf-MEK-ERK. Sorafenib puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente como inhibidor de Raf para inhibir la ruta de MEK-ERK.

10 SP600125 (antra(1,9-cd)pirazol-6(2H)-ona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de JNK, y opcionalmente como inhibidor de MKK3 y/o como inhibidor de MKK6.

SR 11302 (ácido (E,E,Z,E)-3-metil-7-(4-metilfenil)-9-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-2,4,6,8-nonatetraenoico) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AP-1.

15 SR13668 (2,10-dicarbetoxi-6-metoxi-5,7-dihidro-indolo[2,3-b]carbazol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

Las estatinas son una familia de compuestos conocidos en la técnica, que cada uno de ellos puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Rac.

Tacrolimus, también conocido en la técnica como FK-506 y fujimicina, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CREB.

20 TAK-242 (éster etílico de ácido (6R)-6-[[[(2-cloro-4-fluorofenil)amino]sulfonil]-1-ciclohexeno-1-carboxílico], también conocido en la técnica como resatorvid, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

TAK-715 (N-[4-[2-etil-4-(3-metilfenil)-1,3-tiazol-5-il]-2-piridil]benzamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

25 Tanshinona IIA (6,7,8,9-tetrahidro-1,6,6-trimetilfenantro[1,2-b]furan-10,11-diona) es un compuesto que puede aislarse de *Salvia miltiorrhiza*, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AP-1.

Temsirolimus es un derivado de sirolimus (rapamicina), y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

30 TG100-115 (3,3'-(2,4-diamino-6,7-pteridinediil)bisfenol) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

TGX-221 (7-metil-2-(4-morfolinil)-9-[1-(fenilamino)etil]-4H-pirido[1,2-a]pirimidin-4-ona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

35 Tiam1 (p.ej., UniProt Q13009) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Rac.

Tipifarnib ((+)-6-[amino(4-clorofenil)(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]-4-(3-clorofenil)-1-metil-2(1H)-quinolinona) inhibe la actividad de Ras inhibiendo la actividad de farnesiltransferasa, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Ras.

40 TNF- α puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como activador de IRAK3 (p.ej., mediante inducción de IRAK3).

Triciribina (1,5-dihidro-5-metil-1- β -D-ribofuranosil-1,2,5,6,8-pentaazaacenaftilen-3-amina), también conocida en la técnica como API-2, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de AKT.

45 Triptolide es un compuesto que puede aislarse de *Tripterygium wilfordi*, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de NF κ B.

U0126 (1,4-diamino-2,3-diciano-1,4-bis(2-aminofeniltio)-butadieno) inhibe MEK1 y MEK2 activas o inactivas, y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1 y/o como inhibidor de MEK2, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

50 UCN-01 (7-hidroxiestaurosporina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PDK1.

Vav1 (p.ej., UniProt P15498) y Vav2 (p.ej., UniProt P52735) pueden usarse cada uno opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidores de Rac.

VIPER es un péptido inhibidor vírico de TLR4 [Lysakova-Devine et al., *J Immunol* 2010, 185: 4261-4271], y puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de TLR4.

5 VX-702 (6-[(aminocarbonil)(2,6-difluorofenil)amino]-2-(2,4-difluorofenil)-3-piridinacarboxamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

VX-745 (5-(2,6-diclorofenil)-2-[2,4-difluorofenil]tio]-6H-pirido[1,6-b]piridazin-6-ona) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de p38.

10 Wortmannina puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

XL147 (N-(3-(benzo[c][1,2,5]tiadiazol-5-ilamino)quinoxalin-2-il)-4-metilbencenosulfonamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

15 XL281, también conocido en la técnica como BMS-908662, puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de Raf, y opcionalmente como inhibidor de Raf para inhibir la ruta de MEK-ERK.

XL518 ((S)-(3,4-difluoro-2-((2-fluoro-4-iodofenil)amino)fenil)(3-hidroxi-3-(piperidin-2-il)ciclobutil)metanona) inhibe la actividad de MEK, particularmente la actividad de MEK1. XL518 puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de MEK1, y opcionalmente para inhibir la ruta de MEK-ERK.

20 XL-765 (N-[2-[(3,5-dimetoxifenil)amino]quinoxalin-3-il]-4-[(4-metil-3-metoxifenil)carbonil]aminofenilsulfonamida) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K y/o como inhibidor de mTORC1 y/o como inhibidor de mTORC2.

XX-650-23 (peso molecular de 288 Da) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de CREB.

25 ZSTK474 (2-(2-difluorometilbencimidazol-1-il)-4,6-dimorfolino-1,3,5-triazina) puede usarse opcionalmente en las realizaciones descritas en la presente memoria como inhibidor de PI3K.

30 En algunas realizaciones, uno o más agentes como los descritos en la presente memoria no son sustancialmente capaces de atravesar una membrana plasmática (p.ej., una membrana plasmática de una célula inmune). En algunas realizaciones, dicho agente se une a una diana (p.ej., una proteína) localizada sobre una superficie celular. Los ejemplos de dichos agentes descritos en la presente memoria incluyen, por ejemplo, un inhibidor de TLR2, un inhibidor de TLR1, un inhibidor de CD14, un inhibidor de TLR4, un inhibidor de MD-2, un inhibidor de LBP y un inhibidor de TLR6 (p.ej., tal como se describe en la presente memoria).

35 Sin pretender establecer ninguna teoría en particular, se cree que la ausencia de una capacidad para atravesar una membrana plasmática afecta a qué dianas pueden unirse a un agente, y que dicho agente puede por consiguiente presentar un perfil de diana similar al de VB-201, que no atraviesa sustancialmente las membranas plasmáticas y se une a dianas de superficie celular tales como CD14 y TLR2.

40 Tal como se usa en la presente memoria, el término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado que incluye grupos de cadena lineal y de cadena ramificada. Preferiblemente, el grupo alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono. Cuando en la presente memoria se indique un rango numérico, p.ej., "1-20", éste implica que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta los 20 átomos de carbono, inclusive. Más preferiblemente, el alquilo es un alquilo de tamaño medio que tiene entre 1 y 10 átomos de carbono. Lo más preferiblemente, a menos que se indique lo contrario, el alquilo es un alquilo inferior que tiene entre 1 y 4 átomos de carbono. El grupo alquilo puede estar sustituido o sin sustituir. Cuando está sustituido, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, cicloalquilo, alqueno, alquinilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azide, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido, y amino, ya que dichos términos se definen en la presente memoria.

50 Un grupo "cicloalquilo" se refiere a un anillo todo de carbono monocíclico o condensado (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos de carbono) en donde uno o más de los anillos no tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos, sin limitación, de grupos cicloalquilo son ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclopenteno, ciclohexano, ciclohexadieno, cicloheptano, cicloheptatrieno y adamantano. Un grupo cicloalquilo puede estar sustituido o sin sustituir. Cuando se encuentra sustituido, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alqueno, alquinilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azide, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo,

carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido, y amino, ya que dichos términos se definen en la presente memoria.

Un grupo "alqueniilo" se refiere a un grupo alquilo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono.

5 Un grupo "alquinilo" se refiere a un grupo alquilo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono.

10 Un grupo "arilo" se refiere a un grupo todo de carbono monocíclico o policíclico de anillo condensado (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono) que tiene un sistema de electrones pi completamente conjugados. El grupo arilo puede estar sustituido o sin sustituir. Cuando se encuentra sustituido, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azide, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido, y amino, ya que dichos términos se definen en la presente memoria.

15 Un grupo "heteroarilo" se refiere a un anillo monocíclico o condensado (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos) que tiene en el(los) anillo(s) uno o más átomos, tal como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre y, adicionalmente, que tiene un sistema de electrones pi completamente conjugado. Los ejemplos, sin limitación, de grupos heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, quinolina, isoquinolina y purina. El grupo heteroarilo puede estar sustituido o sin sustituir. Cuando está sustituido, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azide, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido, y amino, ya que dichos términos se definen en la presente memoria.

25 Un grupo "heteroalíclico" se refiere a un anillo monocíclico o condensado que tiene en el(los) anillo(s) uno o más átomos tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos también pueden tener uno o más dobles enlaces. Sin embargo, los anillos no tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. El heteroalíclico puede estar sustituido o sin sustituir. Cuando está sustituido, el grupo sustituido puede ser, por ejemplo, electrones de par solitario, alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azide, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido, y amino, ya que dichos términos se definen en la presente memoria. Los ejemplos representativos son piperidina, piperazina, tetrahidro furano, tetrahidropirano, morfolino y similares.

Un grupo "hidroxilo" se refiere a un grupo -OH.

Un grupo "azide" se refiere a un grupo -N=N.

35 Un grupo "alcoxi" se refiere tanto a un grupo -O-alquilo como a un grupo -O-cicloalquilo, tal como se define en la presente memoria.

Un grupo "ariloxi" se refiere tanto a un grupo -O-arilo como a un grupo -O-heteroarilo, tal como se define en la presente memoria.

Un grupo "tiohidroxilo" se refiere a un grupo -SH.

40 Un grupo "tioalcoxi" se refiere tanto a un grupo -S-alquilo, como a un grupo -S-cicloalquilo, tal como se define en la presente memoria.

Un grupo "tioariloxi" se refiere tanto a un grupo -S-arilo como a un grupo -S-heteroarilo, tal como se define en la presente memoria.

45 Un grupo "carbonilo" se refiere a un grupo -C(=O)-R, en donde R es hidrógeno, alquilo, alqueniilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (enlazado a través de un carbono del anillo) o heteroalíclico (enlazado a través de un carbono del anillo) tal como se define en la presente memoria.

Un grupo "aldehído" se refiere a un grupo carbonilo, en donde R es hidrógeno.

Un grupo "tiocarbonilo" se refiere a un grupo -C(=S)-R, en donde R es como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "C-carboxi" se refiere a un grupo -C(=O)-O-R, en donde R es como se ha definido en la presente memoria.

50 Un grupo "O-carboxi" se refiere a un grupo RC(=O)-O-, en donde R es como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "oxo" se refiere a un grupo =O.

Un grupo "ácido carboxílico" se refiere a un grupo C-carboxilo en el que R es hidrógeno.

Un grupo "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

Un grupo "trihalometilo" se refiere a un grupo $-CX_3$ en el que X es un grupo halo como se define en la presente memoria.

5 Un grupo "sulfinilo" se refiere a un grupo $-S(=O)-R$, en donde R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "sulfonilo" se refiere a un grupo $-S(=O)_2-R$, en donde R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "S-sulfonamido" se refiere a un grupo $-S(=O)_2-NR_2$, en donde los R son tal como se ha definido en la presente memoria.

10 Un grupo "N-sulfonamido" se refiere a un grupo $RS(=O)_2-NR$, en donde cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "O-carbamilo" se refiere a un grupo $-OC(=O)-NR_2$, en donde cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "N-carbamilo" se refiere a un grupo $ROC(=O)-NR-$, en donde cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

15 Un grupo "O-tiocarbamilo" se refiere a un grupo $-OC(=S)-NR_2$, en donde cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "N-tiocarbamilo" se refiere a un grupo $ROC(=S)NR-$, en donde cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "amino" se refiere a un grupo $-NR_2$ en el que cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

20 Un grupo "C-amido" se refiere a un grupo $-C(=O)-NR_2$, en el que cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "N-amido" se refiere a un grupo $RC(=O)-NR-$, en el que cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

25 Un grupo "urea" se refiere a un grupo $-NRC(=O)-NR_2$, en el que cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "guanidino" se refiere a un grupo $-RNC(=N)-NR_2$, en el que cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

Un grupo "guanilo" se refiere a un grupo $R_2NC(=N)-$, en el que cada R es tal como se ha definido en la presente memoria.

30 Un grupo "nitro" se refiere a un grupo $-NO_2$.

Un grupo "ciano" se refiere a un grupo $-C\equiv N$.

El término "fosfonilo" o "fosfonato" describe un grupo $-P(=O)(OR)_2$, con R tal como se ha definido anteriormente en la presente memoria.

35 El término "fosfato" describe un grupo $-O-P(=O)(OR)_2$, con cada R tal como se ha definido anteriormente en la presente memoria.

Un "ácido fosfórico" es un grupo fosfato en el que cada R es hidrógeno.

El término "fosfinilo" describe un grupo $-PR_2$, con cada R tal como se ha definido anteriormente en la presente memoria.

El término "tiourea" describe un grupo $-NR-C(=S)-NR-$, con cada R tal como se ha definido anteriormente en la presente memoria.

40 El término "sacárido" se refiere a una o más unidades de azúcar, tanto una unidad de azúcar de cadena abierta como una unidad de azúcar cíclica (p.ej., unidades basadas en piranosa o furanosa), y abarca cualquier monosacárido, disacárido y oligosacárido, a menos que se indique lo contrario.

El agente o agentes descritos en la presente memoria pueden administrarse *per se* o como parte de una composición farmacéutica, que opcionalmente comprende un vehículo.

Quando se administran dos o más agentes (p.ej., como se describe en la presente memoria) en la forma de una composición farmacéutica, cada agente puede administrarse opcionalmente en una composición separada y/o a través de una ruta de administración diferente.

5 Las posibles rutas de administración para cada agente independientemente incluyen, aunque sin limitación, administración parenteral, administración transmucosal, administración rectal, administración bucal y/o inhalación (p.ej., tal como se describe en la presente memoria).

Alternativamente, al menos algunos de los agentes (p.ej., 2 de 3 agentes) se combinan en una composición farmacéutica. Dicha combinación puede facilitar llevar a la práctica el tratamiento de una enfermedad o trastorno (p.ej., como se describe en la presente memoria).

10 Por lo tanto, según otro aspecto de las realizaciones descritas en la presente memoria, se proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos dos agentes y un vehículo farmacéuticamente aceptable, siendo los al menos dos agentes capaces de presentar al menos dos de las tres actividades descritas en la presente memoria.

15 Tal como se usa en la presente memoria, una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de uno o más agentes (como ingrediente(s) activo(s)), tal como se describe en la presente memoria, o de sales o profármacos de los mismos fisiológicamente aceptables, con otros componentes químicos, que incluyen, sin limitación, vehículos, excipientes, lubricantes, agentes tamponantes, agentes antibacterianos, agentes de relleno (p.ej., manitol), antioxidantes (p.ej., ácido ascórbico o bisulfito sódico), y similares, fisiológicamente adecuados. El propósito de la composición farmacéutica es el de facilitar la administración del agente(s) a un sujeto.

20 En la presente memoria, las frases "vehículo fisiológicamente aceptable" y "vehículos farmacéuticamente aceptable", que se usan de forma intercambiable, describen un vehículo o un diluyente que no produce ninguna irritación significativa al sujeto y que no elimina la actividad biológica ni las propiedades del agente(s) descrito(s) en la presente memoria.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico.

25 En la presente memoria, el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar adicionalmente la administración de un ingrediente activo.

30 Tal como se describe en la presente memoria, los al menos dos agentes pueden seleccionarse opcionalmente a partir de cualquiera de los agentes descritos en la presente memoria, así como entre cualquier combinación de al menos dos agentes descritos en la presente memoria. Tal como se describe en la presente memoria, dichas combinaciones pueden presentar opcionalmente cualesquiera dos de las tres actividades descritas en la presente memoria, y opcionalmente pueden presentar las tres actividades descritas en la presente memoria.

En algunas realizaciones, los agentes se seleccionan para ser adecuados para administración a través de la misma ruta.

35 En algunas realizaciones, los agentes se seleccionan para ser adecuados para administración oral. Cabe destacar que el VB-201 es adecuado para administración oral.

En algunas realizaciones, los agentes descritos en la presente memoria (p.ej., agentes que no incluyen VB-201 o un compuesto relacionado) se formulan para una ruta de administración diferente a la administración oral. Por ejemplo, los agentes pueden formularse para administración parenteral, administración transmucosal, administración rectal y/o por inhalación (p.ej., tal como se describe en la presente memoria).

40 Las técnicas para formulación y administración de fármacos pueden encontrarse en "Remington's Pharmaceutical Sciences" Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

Las composiciones farmacéuticas de realizaciones de la presente invención pueden fabricarse mediante procesos bien conocidos en la técnica, p.ej., mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulado, formación de píldoras, levigado, emulsión, encapsulado, atrapamiento o liofilización.

45 Las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo a la presente invención pueden formularse de un modo convencional usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y aditivos, que facilitan el procesado del agente(s) descrito en la presente memoria para conformar las preparaciones que pueden ser usadas farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la ruta de administración elegida.

50 Para inyección, el agente(s) puede(n) formularse en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como disolución de Hank, disolución de Ringer o tampón de suero fisiológico, con o sin disolventes orgánicos tales como propilén glicol, polietilén glicol.

Para administración transmucosal se usan penetradores en la formulación. Dichos penetradores son conocidos de forma general en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo a la presente invención pueden, por tanto, formularse para administración oral de un modo convencional usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y aditivos, que facilitan el procesamiento de los compuestos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente.

5 Una composición farmacéutica según algunas realizaciones puede formularse fácilmente combinando los agentes descritos en la presente memoria con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Usando dichos vehículos, el agente(s) es(son) formulado(s), por ejemplo, como saquitos, píldoras, pastillas, cápsulas, comprimidos, pastillas recubiertas o unidades discretas (p.ej., empaquetadas por separado) de polvos, gránulos o suspensiones o disoluciones en agua o medios no acuosos. Pueden ser deseables espesantes, diluyentes, aromatizantes, aditivos dispersantes, emulsionantes o aglomerantes.

10 Las preparaciones farmacológicas para uso oral pueden prepararse usando un excipiente sólido, moliendo opcionalmente la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, tras añadir aditivos auxiliares si se desea, para obtener comprimidos o pastillas recubiertas. Los excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, carboximetilcelulosa sódica; y/o polímeros fisiológicamente aceptables tales como polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes desintegrantes, tal como polivinil pirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico, o una sal del mismo tal como alginato sódico.

15 Las pastillas recubiertas se proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este propósito, se pueden usar disoluciones de azúcar concentradas que opcionalmente pueden contener goma arábiga, talco, polivinil pirrolidona, carbopol gel, polietilén glicol, dióxido de titanio, disoluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuadas. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de pastillas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis activas.

20 Las composiciones farmacéuticas, que pueden usarse oralmente, incluyen cápsulas de empuje ajustado hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de empuje ajustado pueden contener los ingredientes activos mezclados con un relleno tal como lactosa, aglomerantes tales como almidones, lubricantes tales como talco o estearato magnésico y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, el ingrediente activo puede disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tal como aceites grasos, parafina líquida, o polietilén glicoles líquidos. Adicionalmente, se pueden añadir estabilizantes.

25 Todas las formulaciones para administración oral deberían estar en dosis adecuadas para la ruta de administración elegida.

Preferiblemente, las formulaciones para administración oral incluyen un recubrimiento protector, dirigido a proteger o a frenar la degradación enzimática de la preparación en el tracto GI.

30 Para administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de un modo convencional.

35 Para administración por inhalación, el agente(s) para uso según la presente invención se administra(n) de forma conveniente en la forma de una presentación de spray de aerosol (que incluye típicamente vehículos en polvo, licuados y/o gaseosos) desde un recipiente a presión o nebulizador, con el uso de un propelente adecuado, p.ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, dicloro-tetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosis se puede determinar proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos, p.ej., de gelatina para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse para contener una mezcla en polvo del agente(s) y una base en polvo adecuada, tal como, pero sin limitación, lactosa o almidón.

40 El agente(s) descrito(s) en la presente memoria puede(n) formularse para administración parenteral, p.ej., mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosis unitaria, p.ej., en ampollas o en contenedores multidosis, opcionalmente con un conservante añadido. Las composiciones pueden ser suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

45 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de la preparación del agente(s) en forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones del agente(s) se pueden preparar como suspensiones y emulsiones aceitosas apropiadas para inyección (p.ej., emulsiones agua-en-aceite, aceite-en-agua o agua-en-aceite en aceite). Los disolventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo, triglicéridos o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tal como carboxi metil celulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes adecuados, o agentes que aumentan la solubilidad del agente(s) para permitir la preparación de disoluciones altamente concentradas.

50

55

Alternativamente, el agente(s) puede(n) estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, p.ej., agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

El agente(s) descrito(s) en la presente memoria también puede(n) formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, usando, p.ej., bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria también pueden comprender vehículos o excipientes sólidos de fase gel adecuados. Los ejemplos de dichos vehículos o excipientes incluyen, aunque sin limitación, carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilén glicoles.

En una realización, el VB-201 a administrar al sujeto se formula para administración oral, p.ej., en una cápsula de gelatina dura rellena de líquido. Los ejemplos de formulaciones de VB-201 útiles en el contexto de esta descripción se describen en el documento PCT/US2012/053533 a nombre de Sher et al.

En otra realización, VB-201 se formula usando un vehículo termoablandador seleccionado entre un poloxámero (p.ej., poloxámero 188) y un polietilén glicol que tiene un peso molecular entre aproximadamente 6000 y aproximadamente 8000 (p.ej., PEG6000), un agente antiadherente (p.ej., talco) con una relación en peso de entre aproximadamente 1:4 y aproximadamente 1:1 (agente anti-adherente:VB-201), y un agente tixotrópico (p.ej., dióxido de silicio fumado) a una concentración relativa al peso combinado del vehículo termoablandador y el agente tixotrópico de entre aproximadamente 0,5 por ciento en peso y aproximadamente 5 por ciento en peso (p.ej., entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 3 por ciento en peso). En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1-12 descritos en la presente memoria, el VB-201 se administra al sujeto usando una formulación que comprende un poloxámero (p.ej., poloxámero 188) como vehículo termoablandador, VB-201 de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 80 mg, talco en una relación en peso de aproximadamente 1:1 o a una relación en peso de aproximadamente 1:4 (talco:VB-201), y dióxido de silicio fumado como agente tixotrópico en una concentración relativa al peso combinado del poloxámero y el dióxido de silicio fumado entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 3 por ciento en peso.

Vehículo termoablandador

Tal como se usa en la presente memoria, el término “vehículo termoablandador” se refiere a un vehículo que se reblandece (p.ej., se hace fluido) al calentar a una temperatura por encima de la temperatura ambiente. Un vehículo termoablandador se vuelve blando a una temperatura que no daña el ingrediente farmacéutico activo (p.ej., por oxidación) o al propio vehículo termoablandador. El ablandamiento al calentar puede caracterizarse por una transición de fase (p.ej., una transición sólido a líquido), o puede no caracterizarse por una transición de fase (p.ej., ablandamiento de un material amorfo). El termoablandamiento es reversible, de tal modo que el vehículo ablandado se endurece tras volver a ser enfriado a temperatura ambiente. En algunas realizaciones, el vehículo termoablandador es una mezcla de dos o más agentes.

El vehículo termoablandador facilita la preparación de una composición de relleno líquido y el llenado de cápsulas con la misma a una temperatura a la cual el vehículo termoablandador es blando, así como la formación de una matriz sólida o semisólida tras enfriar (p.ej., enfriar a temperatura ambiente). En un ejemplo, el vehículo termoablandador es un sólido o un semisólido a una temperatura por debajo de 35 °C, o por debajo de 30 °C (p.ej., a temperatura ambiente, es decir, 25 °C). En un ejemplo, el vehículo termoablandador es no higroscópico. El vehículo termoablandador es un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Opcionalmente, el vehículo termoablandador se reblandece a una temperatura de no más de aproximadamente 150 °C, y opcionalmente a una temperatura de no más de aproximadamente 100 °C, o 90 °C.

En algunas realizaciones, el vehículo termoablandador tiene un punto de fusión en un intervalo de entre aproximadamente 40 °C y aproximadamente 100 °C. Opcionalmente, el punto de fusión está en un rango de entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 80 °C. En otros ejemplos, el punto de fusión del vehículo termoablandador está entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 70 °C, o entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 60 °C, y opcionalmente en un rango entre aproximadamente 55 °C y aproximadamente 65 °C. Por consiguiente, a dichas temperaturas, el vehículo termoablandador sufre la transformación de material duro a material blando, y viceversa. En un ejemplo, el vehículo termoablandador a una temperatura por encima de su punto de fusión es suficientemente blando para rellenar el vehículo en una cápsula (p.ej., en una cápsula de gelatina dura).

Los ejemplos de vehículos termoablandadores incluyen ceras, poloxámeros (p.ej., Poloxámero 188), glicéridos macrogol, PEGs de alto peso molecular (p.ej., PEG6000 o PEG 8000), monooleatos o monoestearatos de glicerol, glicéridos hidrogenados o parcialmente hidrogenados (p.ej., aceite de semilla de palma hidrogenado o aceite de semilla de algodón hidrogenado), Gelucires™, y grasas duras tales como cera de abejas. Otros ejemplos de vehículos termoablandadores incluyen Softisan™ y hexadecano-1-ol.

En algunas realizaciones, el polialquilen glicol es un poloxámero. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el vehículo termoablandador es un poloxámero.

Los poloxámeros son polialquilen glicoles tribloque, que comprenden una cadena de polipropilen glicol central, que es relativamente hidrofóbica, flanqueada por dos cadenas de polietilen glicol, que son relativamente hidrofílicas. Esta combinación de cadenas hidrofóbicas e hidrofílicas proporciona a los poloxámeros propiedades tensioactivas.

5 Los poloxámeros se caracterizan típicamente por el peso molecular del núcleo de polipropilen glicol del poloxámero y por la proporción de polietilen glicol frente a polipropilen glicol. Estos parámetros se describen habitualmente como caracterizadores de un poloxámero a través de un número de tres dígitos, en donde los dos primeros dígitos, cuando se multiplican por 100, dan el peso molecular (en daltons) del núcleo de polipropilen glicol, mientras que el último dígito, cuando se multiplica por 10, proporciona el porcentaje de polietilen glicol. De esta forma, por ejemplo, el poloxámero 188 tiene un núcleo de polipropilen glicol con un peso molecular de 1800 daltons y tiene un 80 % de polietilen glicol (y por tanto tiene un peso molecular total de aproximadamente 9000 daltons), mientras que el poloxámero 407 tiene un núcleo de polipropilen glicol con un peso molecular de 4000 daltons y tiene un 70 % de polietilen glicol (y por tanto tiene un peso molecular total de aproximadamente 13000 daltons).

El poloxámero 188 es un ejemplo de poloxámero. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el vehículo termoablandador es poloxámero 188.

15 En una realización, el vehículo termoablandador se selecciona entre PEG6000, poloxámero 188, y combinaciones de los mismos.

20 El vehículo termoablandador también puede comprender un aceite o una combinación de uno o más aceites. En la técnica se conocen muchos aceites adecuados para uso como vehículo termoablandador para aplicaciones terapéuticas. Los ejemplos incluyen, sin limitación, ésteres de ácidos grasos, tales como triglicéridos y diésteres de un glicol (p.ej., propilen glicol). Se pueden añadir otros aceites al vehículo termoablandador para reducir/afinar la viscosidad, p.ej., aceite de coco fraccionado o aceite de soja.

Agente antiadherente

25 Tal como se usa en la presente memoria, la frase "agente antiadherente" se refiere a un agente que reduce la cohesión entre partículas de una sustancia (p.ej., VB-201) y/o una adherencia de dichas partículas a una superficie sólida (p.ej., de un recipiente y/o maquinaria de encapsulación). Por ejemplo, la reducción de la cohesión provocada por un agente antiadherente es mayor que la reducción de la cohesión provocada por mera dilución de la sustancia por adición de un agente.

30 Opcionalmente, el agente antiadherente es un material (p.ej., un sólido, tal como un polvo) con poca o ninguna solubilidad en los otros componentes de la cápsula (p.ej., el vehículo termoablandador). El agente antiadherente puede actuar adhiriéndose al VB-201, formando de este modo, p.ej., granos y/o partículas de polvo. Como resultado, se reduce la adherencia del VB-201 a otras superficies (p.ej., otros granos y/o partículas de polvo de VB-201, superficies de recipientes y/o de la maquinaria de encapsulación).

En los ejemplos de realizaciones, la proporción de agente antiadherente a VB-201 es de aproximadamente 1:1 o 1:4.

35 Los ejemplos de agentes antiadherentes incluyen, aunque sin limitación, talco, estearato de magnesio, celulosa (p.ej., celulosa microcristalina), derivados de celulosa (p.ej., hidroxipropil metilcelulosa (HPMC)), lactosa, gelatina, alginatos, hidróxido de aluminio, óxido de magnesio, arcillas, atapulgita, bentonita, carragenano, copovidona, hectorita, polimetacrilatos, docusato sódico, eritritol, povidonas, croscarmelosa sódica, dextratos, almidones, óxido de hierro, caolín, silicatos (p.ej., aluminosilicato de magnesio), harina de maíz, azúcares, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, fosfato de calcio, sulfato de calcio, bicarbonatos (p.ej., de potasio o sodio), sales de citrato (p.ej., citrato de potasio) y dióxido de titanio.

45 En un ejemplo según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el agente antiadherente es talco. Se puede usar cualquier talco de grado farmacéutico o grado alimentario (p.ej., talco en polvo). Los ejemplos de grados de talco, que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas, composiciones de relleno líquido, cápsulas y otras realizaciones de la presente invención, se describen en Dawoodbhai et al., "Pharmaceutical and Cosmetic Uses of Talc", Drug Development and Industrial Pharmacy, 16(16): 2409-2429 (1990); y Dawoodbhai et al., "Glidants and Lubricant Properties of Several Types of Talcs", Drug Development and Industrial Pharmacy, 13(13): 2441-2467 (1987). En algunos ejemplos, el talco es talco en polvo. En algunos ejemplos, el talco es de grado USP. En otro ejemplo, el talco es talco en polvo y de grado USP.

Agente tixotrópico

50 Tal como se usa en la presente memoria, un "agente tixotrópico" se refiere a un agente que aumenta la viscosidad de un líquido cuando se añade a un líquido. Como es sabido en la técnica, la "tixotropía" es un comportamiento reversible de los líquidos viscosos (p.ej., los geles) que se licúan cuando son sometidos a una tensión rasante, tal como al mover o agitar, o se ven alterados de algún modo.

55 Un líquido viscoso que contiene un agente tixotrópico presenta tixotropía, en donde la viscosidad se reduce bajo tensión (p.ej., agitación, calentamiento y/o aplicación de fuerzas rasantes). Los ingredientes de una composición de

relleno líquida (p.ej., vehículo, VB-201, agente tixotrópico y/o agente antiadherente) pueden por tanto mezclarse fácilmente mediante agitación, ya que la viscosidad se reduce durante la agitación, y aun así la composición de relleno es relativamente resistente a la separación de sus componentes, ya que la viscosidad aumenta cuando cesa la agitación.

5 Los ejemplos de agentes tixotrópicos adecuados para uso en el contextos de las presentes realizaciones incluye, aunque sin limitación, sílice fumante (disponible, por ejemplo, como productos Aerosils® y Cab-O-Sil®), tierra de diatomeas, gomas (p.ej., goma xantana, goma guar, goma de garrofin, alginatos), derivados de celulosa (p.ej., hidroxipropil metil celulosa), almidones, polímeros (p.ej., polivinil alcohol, poliacrilatos, poliacrilatos modificados hidrofóbicamente), emulsionantes, y derivados de arcilla (p.ej., aluminosilicato de magnesio tratado con amina, ácido silícico coloidal de bentonita, arcillas de esmectita blanca y tierra de blanqueo, atapulgita, mica, filosilicatos magnésicos sintéticos (Laponita), silicatos laminados, esmectitas modificadas, hectorita y sepiolita. Opcionalmente, el agente tixotrópico comprende sílice fumada y/o atapulgita.

15 La concentración del agente tixotrópico en la composición farmacéutica (es decir, la composición de relleno líquido o matriz de la cápsula), a menos que se indique lo contrario, se determina respecto al peso combinado del vehículo termoablandador y el agente tixotrópico. Por ejemplo, a un 2,5 por ciento en peso de agente tixotrópico, la composición farmacéutica puede contener 10 mg de agente tixotrópico y 390 mg de vehículo termoablandador ($10/400 = 2,5 \%$).

20 En un ejemplo según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el agente tixotrópico es una sustancia diferente del agente termoablandador (es decir, el agente tixotrópico es distinto químicamente del agente termoablandador). En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el agente tixotrópico es una sustancia diferente del agente antiadherente (es decir, el agente tixotrópico es distinto químicamente del agente antiadherente). En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el agente tixotrópico es una sustancia diferente del agente termoablandador y del agente antiadherente (es decir, el agente tixotrópico es químicamente distinto tanto del agente termoablandador como del agente antiadherente).

25 La determinación de una cantidad terapéuticamente efectiva está al alcance del especialista en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada proporcionada en la presente memoria.

30 Para cualquier agente descrito en la presente memoria, la cantidad o dosis terapéuticamente efectiva, si no es conocida ya en la técnica, puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de actividad en animales. Por ejemplo, se puede formular una dosis en modelos animales para alcanzar un rango de concentración en circulación que incluye la IC_{50} , según se determina en ensayos de actividad (p.ej., la concentración de un inhibidor de proteína descrito en la presente memoria, que alcanza la reducción máxima media de la actividad de la proteína a inhibir). Dicha información puede usarse para determinar con mayor precisión las dosis útiles en humanos.

Una composición farmacéutica (p.ej., una composición para administración oral) puede formularse opcionalmente para liberación lenta y/o liberación retardada de uno o más agentes de la composición.

35 En la presente memoria, "liberación lenta" se refiere a una liberación gradual de un agente activo a lo largo de un periodo de tiempo relativamente largo tras la administración, opcionalmente de al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 4 horas, al menos 8 horas, al menos 16 horas, y opcionalmente al menos 24 horas.

40 En la presente memoria, "liberación retardada" se refiere a una formulación en la que se produce la liberación de un agente principalmente después de un retraso considerable desde la administración, opcionalmente después de al menos 1 hora, al menos 2 horas, al menos 4 horas, y opcionalmente después de al menos 8 horas. Cuando se produce la administración retardada, la liberación puede ser relativamente repentina (p.ej., una liberación "explosiva") o una liberación lenta.

En la técnica se conocen diversas formulaciones que proporcionan una liberación lenta y/o retardada, y pueden seleccionarse para ajustarse a las propiedades químicas de un agente (p.ej., hidrofobicidad).

45 La liberación lenta y/o retardada puede ser ventajosa para agentes que presentan una vida media en el organismo relativamente corta. Los perfiles farmacocinéticos de agentes tras la administración se pueden determinar mediante técnicas conocidas en el campo, por ejemplo, determinando los niveles de un agente en la sangre a diferentes intervalos tras la administración.

50 Opcionalmente, el tiempo a lo largo del cual se produce la liberación del agente se selecciona de tal modo que permita un nivel terapéutico y relativamente constante del agente en la sangre cuando la composición se administra una vez al día o dos veces al día.

La liberación lenta y/o retardada puede ser ventajosa para agentes para los que no es deseable efectuar la liberación en el estómago, que incluyen por ejemplo, agentes que son sensibles a un ácido, y agentes que irritan el estómago.

55 En dichas realizaciones, el tiempo en el cual se produce la liberación del agente se selecciona opcionalmente de tal modo que se libere poco agente antes de abandonar el estómago (p.ej., en las primeras 2 horas).

Las composiciones pueden formularse de tal modo que la liberación lenta y/o retardada se efectúa para algunos de los agentes presentes, pero no para todos. Por ejemplo, una composición (p.ej., una cápsula, un comprimido) puede comprender dos porciones, en donde una porción (p.ej., una porción interior) se caracteriza por una liberación lenta y/o una liberación retardada, y una segunda porción (p.ej., una porción exterior) se caracteriza por una liberación normal (p.ej., una liberación inmediata).

En algunas realizaciones, las composiciones que comprenden dos o más agentes se formulan de tal modo que todos los agentes están presentes en un nivel en plasma máximo o próximo al máximo sustancialmente al mismo tiempo.

Según otro aspecto de las realizaciones descritas en la presente memoria, se proporciona un kit que comprende al menos dos agentes, siendo capaces los al menos dos agentes de presentar al menos dos de las tres actividades descritas en la presente memoria.

Los al menos dos agentes pueden seleccionarse opcionalmente entre cualquiera de los agentes descritos en la presente memoria, así como entre cualquier combinación de al menos dos agentes como se describe en la presente memoria. Tal como se describe en la presente memoria, dichas combinaciones pueden presentar opcionalmente cualesquier dos de las tres actividades descritas en la presente memoria, y pueden presentar opcionalmente las tres actividades descritas en la presente memoria.

En algunas realizaciones, cada uno de los al menos dos agentes es empaquetado individualmente dentro del kit. Los agentes descritos pueden estar empaquetados *per se* o como parte de una composición farmacéutica, que puede formularse como se describe en la presente memoria.

En realizaciones alternativas, al menos algunos de los agentes del kit se combinan en una composición farmacéutica (p.ej., una composición farmacéutica descrita en la presente memoria).

Las composiciones descritas en la presente memoria pueden, si se desea, presentarse en un pack o en un dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA (la "Food and Drug Administration" de los EE. UU.) (p.ej., un kit como el descrito en la presente memoria), que puede contener una o más formas de dosis unitaria que contienen los agentes descritos en la presente memoria. El pack o dispositivo dispensador puede, por ejemplo, comprender una lámina metálica o de plástico, tal como, aunque sin limitación, un blíster. El pack o dispositivo dispensador puede venir acompañado de instrucciones para su administración. El pack puede venir acompañado también de una nota asociada al recipiente en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regule la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, nota que refleje la aprobación por parte de la agencia de la forma de las composiciones para administración a humanos. Dicha nota, por ejemplo, puede ser una etiqueta aprobada por la "Food and Drug Administration" de los EE. UU. para la prescripción de fármacos, o un folleto de producto aprobado. Las composiciones y kits descritos en la presente memoria, que comprenden los agentes descritos en la presente memoria (p.ej., formulados en un vehículo farmacéutico compatible) también pueden prepararse, colocarse en un recipiente apropiado, e identificarse (p.ej., etiquetarse) para el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio, tal como se define en la presente memoria.

En cualquiera de los aspectos de las realizaciones descritas en la presente memoria, la enfermedad o trastorno inflamatorio tratable según dichas realizaciones opcionalmente es una enfermedad o trastorno inflamatorio asociado a un lípido endógeno oxidado.

Tal como se usa en la presente memoria, la frase "un lípido endógeno oxidado" se refiere a uno o más lípidos oxidados que están presentes o que se forman *in vivo*, como resultado de procesos inflamatorios y otros procesos mediados por células o humorales. La lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL oxidada) es un ejemplo de un lípido oxidado endógeno asociado a una enfermedad o trastorno inflamatorio.

En otra realización, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 40 mg de VB-201, 40 mg de un agente antiadherente (p.ej., talco), 12 mg de un agente tixotrópico (p.ej., sílice fumada), y 388 mg de un vehículo termoablandador (p.ej., un poloxámero). En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 40 mg de VB-201, 40 mg de talco, 12 mg de dióxido de silicio fumado, y 388 mg de un poloxámero. En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 40 mg de VB-201, 10 mg de un agente antiadherente (p.ej., talco), 4 mg de un agente tixotrópico (p.ej., sílice fumada), y 396 mg de un vehículo termoablandador (p.ej., un poloxámero). En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 40 mg de VB-201, 10 mg de talco, 4 mg de dióxido de silicio fumado, y 396 mg de poloxámero 188. En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 80 mg de VB-201, 80 mg de un agente antiadherente (p.ej., talco), 12 mg de un agente tixotrópico (p.ej., sílice fumada), y 388 mg de un vehículo termoablandador (p.ej., un poloxámero). En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 80 mg de VB-201, 80 mg de talco, 12 mg de sílice fumada, y 388 mg de poloxámero 188. En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 80 mg de VB-201, 20 mg de un agente antiadherente (p.ej., talco), 4 mg de un agente tixotrópico (p.ej., sílice fumada), y 396 mg de un vehículo termoablandador (p.ej., un poloxámero). En otros ejemplos, VB-201 se administra al sujeto en una formulación que comprende: 80 mg de VB-201, 20 mg de talco, 4 mg de dióxido de silicio fumado, y 396 mg de poloxámero 188.

Tratamiento de inflamación vascular**Método 1a**

5 En varios aspectos descritos en la presente memoria, la presente descripción proporciona el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento (p.ej., de reducción) de la inflamación vascular (p.ej., la inflamación vascular asociada a lesiones ateroscleróticas) en un sujeto que lo necesite (p.ej., un paciente humano), comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 (p.ej., entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 160 mg/día). En algunos ejemplos, el sujeto padece una enfermedad autoinmune/inflamatoria crónica (p.ej., psoriasis). Los ejemplos de cantidades terapéuticamente efectivas de VB-201 útiles en el Método 1a se describen en la presente memoria.

Método 1b

10 De esta manera, en otros aspectos descritos en la presente memoria, la presente descripción proporciona el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento (p.ej., de reducción) de la inflamación vascular (p.ej., la inflamación vascular asociada a lesiones ateroscleróticas) en un sujeto que lo necesite (p.ej., un paciente humano), en donde el sujeto padece una enfermedad autoinmune crónica o una enfermedad inflamatoria crónica (p.ej., psoriasis), comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 (p.ej., entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 160 mg/día). Los ejemplos de cantidades terapéuticamente efectivas de VB-201 útiles en el Método 1b se describen en la presente memoria.

15 En algunos ejemplos según los Métodos 1a y 1b, el sujeto padece psoriasis. En otros ejemplos según los Métodos 1a y 1b, la cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 (p.ej., entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 160 mg/día) se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 8 semanas (p.ej., al menos aproximadamente 10 semanas, o al menos aproximadamente 12 semanas).

Método 2

20 En otros aspectos descritos en la presente memoria, la presente descripción proporciona el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento (p.ej., de reducción) de la inflamación vascular en un sujeto humano que padece una enfermedad autoinmune crónica o una enfermedad inflamatoria crónica (p.ej., psoriasis), comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 (p.ej., entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 160 mg/día) durante al menos aproximadamente 8 semanas (p.ej., al menos aproximadamente 10 semanas, o al menos aproximadamente 12 semanas). En algunos ejemplos, la inflamación vascular en el sujeto se reduce en al menos aproximadamente 10% en comparación con la inflamación vascular en el sujeto antes de administrar el VB-201 al sujeto (respecto a la línea base). Los ejemplos de cantidades terapéuticamente efectivas de VB-201 útiles en el Método 2 se describen en la presente memoria. En la presente memoria también se describen porcentajes alternativos de reducción de la inflamación vascular en el Método 2.

25 El efecto de VB-201 sobre la inflamación vascular en pacientes tratados con estatinas sometidos a terapia de estatinas antes del inicio del tratamiento con VB-201.

30 En algunos casos, el efecto observado para el VB-201 en pacientes sometidos a terapia de estatinas fue incluso ligeramente mejor que en pacientes no tratados con estatinas, lo que indica una posible sinergia entre las estatinas y el VB-201, en relación a la reducción de la inflamación vascular.

35 Por tanto, en algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b y 2 descritos en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas antes de la administración del VB-201 (p.ej., en donde se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de una estatina al sujeto durante un periodo de tiempo inmediatamente previo a la primera administración del VB-201). En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b y 2, el sujeto es tratado concomitantemente con una estatina.

Método 3

40 En diversos aspectos descritos en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento (p.ej., reducción) de la inflamación vascular, comprendiendo el método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 (p.ej., entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 160 mg/día), en donde el sujeto se sometió a terapia de estatinas antes de la administración del VB-201 (p.ej., en donde se administra al sujeto la cantidad terapéuticamente efectiva de una estatina durante un periodo de tiempo inmediatamente anterior a la primera administración del VB-201).

45 En un ejemplo según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2 y 3 descritos en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas (es decir, a la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de una estatina) durante al menos aproximadamente 2 semanas antes de la primera administración de VB-201. En otros ejemplos según una cualquiera de las reivindicaciones descritas en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas durante al menos aproximadamente 2 meses antes de la administración del VB-201.

50 En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto se sometió a

5 terapia de estatinas durante al menos aproximadamente 3 meses antes de la administración del VB-201. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas durante al menos aproximadamente 4 meses antes de la administración del VB-201. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas durante al menos aproximadamente 5 meses antes de la administración del VB-201. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas durante al menos aproximadamente 6 meses antes de la administración del VB-201. En otros ejemplos adicionales según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto se sometió a terapia de estatinas entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 2 meses antes de la primera administración de VB-201.

10 En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2 y 3, el sujeto continúa bajo terapia de estatinas después del inicio del tratamiento del sujeto con el VB-201 (es decir, tras la primera administración de VB-201 al sujeto).

15 En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2 y 3 descritos en la presente memoria, la inflamación vascular se mide usando imágenes de tomografía computarizada de emisión de positrones (PET/CT) cuantificando la captación de 18-fluorodesoxiglucosa (18-FDG) como diana con respecto a una ratio de fondo (TBR), p.ej., tal como se describe en la presente memoria, o en el Ejemplo 8 del documento WO2011/083465.

Método 4

20 Por tanto, en la presente memoria se describe el compuesto VB-201 para uso en un método de reducción de la inflamación vascular en un sujeto, comprendiendo el método la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 20 mg/día a aproximadamente 160 mg/día (p.ej., de 20 mg/día a aproximadamente 80 mg/día, o de aproximadamente 80 mg/día a aproximadamente 160 mg/día). En algunos ejemplos la inflamación vascular tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto (p.ej., durante al menos aproximadamente 12 semanas) se reduce en al menos aproximadamente 10% en comparación a la inflamación vascular en el sujeto previo a la administración de VB-201 al sujeto (respecto a la línea base). En algunos ejemplos, la inflamación vascular se mide usando imágenes de tomografía computarizada de emisión de positrones (PET/CT) cuantificando la captación de 18-fluorodesoxiglucosa (18-FDG) como diana con respecto a una ratio de fondo (TBR) (p.ej., tal como se describe en la presente memoria, o en el Ejemplo 8 del documento WO2011/083465).

30 En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, la inflamación vascular del sujeto se reduce en un periodo de tratamiento relativamente corto (p.ej., no superior a aproximadamente 12 semanas) durante el cual la inflamación vascular se reduce en un porcentaje dado (p.ej., al menos aproximadamente un 10 % con respecto a la línea base). En algunos ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 5% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración (línea base). En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 6% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 8% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 10% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 12% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 14% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 16% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 18% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular (p.ej., tras administrar la cantidad terapéuticamente efectiva al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o aproximadamente 24 semanas) se reduce en al menos aproximadamente un 20% en comparación con la inflamación vascular previa a la administración.

En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 8 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 8 semanas o no más de aproximadamente 8 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 12 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 12 semanas o no más de aproximadamente 12 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 14 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 14 semanas o no más de aproximadamente 14 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 16 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 16 semanas o no más de aproximadamente 16 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 18 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 18 semanas o no más de aproximadamente 18 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 20 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 20 semanas o no más de aproximadamente 20 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante al menos aproximadamente 24 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante aproximadamente 24 semanas o no más de aproximadamente 24 semanas.

En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, el sujeto presenta un nivel elevado de proteína reactiva C de alta sensibilidad (hs-CRP) antes de la primera administración de VB-201.

En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, el sujeto no presenta un nivel elevado de proteína reactiva C de alta sensibilidad (hs-CRP) antes de la primera administración de VB-201.

En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, el sujeto no ha estado sometido a una dosis estable de estatinas (p.ej., ≥ 20 mg/día de atorvastatina; o ≥ 10 mg/día de rosuvastatina; o ≥ 40 mg/día de simvastatina). En otro ejemplo según una cualquiera de las realizaciones descritas, el sujeto se sometió a terapia de estatinas con menos de una dosis alta de estatinas (p.ej., menos de 20 mg/día de atorvastatina; o menos de 10 mg/día de rosuvastatina; o menos de 40 mg/día de simvastatina). En otro ejemplo según una cualquiera de las realizaciones descritas, el sujeto se sometió a terapia de estatinas durante menos de 3 meses antes de la primera administración de VB-201.

En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, la inflamación vascular es inflamación de una arteria carótida. En otra realización, la inflamación vascular es inflamación de una aorta.

En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, la inflamación vascular está asociada a aterosclerosis (es decir, el sujeto padece aterosclerosis). En otra realización según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular se asocia a enfermedad cardiovascular (es decir, el sujeto padece una enfermedad cardiovascular). En otros ejemplos adicionales según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la inflamación vascular está asociada a psoriasis (es decir, el sujeto padece psoriasis).

En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 1a, 1b, 2, 3 y 4 descritos en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 5 mg/día y aproximadamente 240 mg/día, o entre aproximadamente 10 mg/día y aproximadamente 240 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones deseadas, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 240 mg/día, o entre aproximadamente 40 mg/día y aproximadamente 240 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones deseadas, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 200 mg/día, o entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 180 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 10 mg/día y aproximadamente 160 mg/día, o entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 160 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente

memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 40 mg/día y aproximadamente 160 mg/día.

5 En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 40 mg/día y aproximadamente 160 mg/día, o entre aproximadamente 50 mg/día y aproximadamente 160 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 60 mg/día y aproximadamente 160 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 80 mg/día y aproximadamente 160 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 100 mg/día a aproximadamente 160 mg/día, o entre aproximadamente 120 mg/día y aproximadamente 160 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 80 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 120 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 160 mg/día.

20 En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 120 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 100 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 120 mg/día. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 20 mg/día y aproximadamente 80 mg/día. En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 40 mg/día y aproximadamente 80 mg/día.

25 En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, en donde el VB-201 se administra con una dosis diaria de más de aproximadamente 80 mg/día (p.ej., 120 mg/día o 160 mg/día), entonces la dosis total de VB-201 se administra en al menos dos sub-dosis diarias, p.ej., una por la mañana y una por la tarde con aproximadamente 12 horas entre las sub-dosis, cada 12 horas (Q12H). En algunos ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, cuando se administra el VB-201 en una dosis diaria de aproximadamente 120 mg/día, el VB-201 se administra en dos sub-dosis de 40 mg y 80 mg (p.ej., 40 mg por la mañana y 80 mg por la tarde, o 80 mg por la mañana y 40 mg por la tarde) o en dos sub-dosis de 60 mg cada una. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, cuando se administra VB-201 con una dosis diaria de aproximadamente 160 mg/día, el VB-201 se administra en dos sub-dosis iguales de aproximadamente 80 mg cada una (p.ej., Q12H).

35 En una realización según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 20 mg/día administrada al sujeto en 1 o 2 dosis diarias. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 20 mg/día administra al sujeto en una única dosis diaria. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 40, 60 o 80 mg/día administra al sujeto en 1 o 2 dosis diarias. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, la cantidad terapéuticamente efectiva es de aproximadamente 80 mg/día administrada al sujeto en una única dosis diaria.

Método 5

45 En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, la presente descripción proporciona el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento (p.ej., reducción) de la inflamación vascular (p.ej., la inflamación vascular asociada a lesiones ateroscleróticas) en un sujeto que lo necesite (p.ej., un paciente humano), comprendiendo el método la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde la cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 está entre aproximadamente 120 mg/día y aproximadamente 160 mg/día (p.ej., 160 mg/día), y en donde la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto en al menos dos sub-dosis diarias, en donde cada sub-dosis es de 80 mg o menos.

55 En algunos ejemplos del Método 5, la dosis total de VB-201 se administra en dos sub-dosis, p.ej., una por la mañana y otra por la tarde con aproximadamente 12 horas entre las sub-dosis, p.ej., cada 12 horas (Q12H). En algunos ejemplos según cualquiera de las realizaciones del Método 5 descrito en la presente memoria, cuando el VB-201 se administra con una dosis diaria de aproximadamente 120 mg/día, el VB-201 se administra en dos sub-dosis de 40 mg y 80 mg (p.ej., 40 mg por la mañana y 80 mg por la tarde, o 80 mg por la mañana y 40 mg por la tarde), o se administra en dos sub-dosis iguales de 60 mg cada una. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones del Método 5 descrito en la presente memoria, cuando el VB-201 se administra con una dosis diaria de aproximadamente 160 mg/día, el VB-201 se administra en dos sub-dosis iguales de aproximadamente 80 mg cada una (p.ej., Q12H).

Método 6

En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, la presente descripción proporciona el compuesto VB-201 para uso en métodos de tratamiento de la psoriasis grave, en donde la psoriasis grave es una psoriasis de categoría 4 según la escala "Physician Global Assessment" (PTGA). En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201 tal como se define en la presente memoria (p.ej., la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 80 mg/día y aproximadamente 160 mg/día) durante un periodo de tratamiento. En algunos ejemplos, la psoriasis grave mejora a psoriasis moderada, leve, casi inexistente, o a no psoriasis (psoriasis de categorías 0-3 según la escala PTGA) durante el periodo de tratamiento. En algunos ejemplos según el Método 4, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante un periodo de tratamiento de al menos aproximadamente 8 semanas (p.ej., 8 semanas, 12 semanas, 16 semanas, 20 semanas o 24 semanas).

Método 7

En otras realizaciones descritas en la presente memoria, la presente descripción proporciona el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de psoriasis moderada a grave, en donde la psoriasis de moderada a grave es psoriasis de las categorías 3 y 4 según la escala de "Physician Global Assessment" (PTGA). El método comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde la cantidad terapéuticamente efectiva se define en la presente memoria (p.ej., la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 80 mg/día y aproximadamente 160 mg/día). La cantidad terapéuticamente efectiva se administra al sujeto durante un periodo de tratamiento de al menos aproximadamente 8 semanas (p.ej., 8 semanas, 12 semanas, 16 semanas, 20 semanas o 24 semanas). En algunos ejemplos, la psoriasis grave mejora a psoriasis leve, casi inexistente, o a no psoriasis (psoriasis de categorías 0-2 según la escala PTGA) durante el periodo de tratamiento.

Método 8

En otras realizaciones descritas en la presente memoria, la presente descripción proporcionar el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de psoriasis moderada, grave o peor que grave, que es psoriasis de las categorías 3 a 5 según la escala de "Patient Global Assessment" (PTGA). El método comprende la administración a un sujeto que lo necesita de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde la cantidad terapéuticamente efectiva se define en la presente memoria (p.ej., la cantidad terapéuticamente efectiva está entre aproximadamente 80 mg/día y aproximadamente 160 mg/día) durante un periodo de tratamiento de al menos aproximadamente 8 semanas (p.ej., 8 semanas, 12 semanas, 16 semanas o 24 semanas). En algunos ejemplos, la psoriasis grave mejora a psoriasis leve, casi inexistente, o a no psoriasis (psoriasis de categorías 0 a 2 según la escala PtGA) durante el periodo de tratamiento.

Puntuación PASI

En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI de al menos aproximadamente 10 y no más de aproximadamente 20 (psoriasis de moderada a grave en base a la puntuación PASI). En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI inferior a aproximadamente 10. En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI inferior a aproximadamente 14,3. En otros ejemplos según cualquiera de las reivindicaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI que está entre aproximadamente 10 y aproximadamente 20. En otro ejemplo según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI que está entre aproximadamente 11 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 12 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 13 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 14 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 15 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 19, o entre aproximadamente 11 y aproximadamente 19, o entre aproximadamente 12 y aproximadamente 19, o entre aproximadamente 13 y aproximadamente 19, o entre aproximadamente 14 y aproximadamente 19, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 18, o entre aproximadamente 11 y aproximadamente 18, o entre aproximadamente 12 y aproximadamente 18, o entre aproximadamente 13 y aproximadamente 18, o entre aproximadamente 14 y aproximadamente 18, o entre aproximadamente 15 y aproximadamente 18. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI que está entre aproximadamente 14,3 y aproximadamente 18,5. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración de VB-201, presenta una puntuación PASI superior a aproximadamente 18,5.

Método 9a

Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo el método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto antes de la administración de VB-201 presenta una puntuación PASI inferior a 14,3, p.ej., entre aproximadamente 10 y aproximadamente 14 (p.ej., entre

aproximadamente 10 y aproximadamente 13, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 12, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 11).

Método 9b

5 Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto antes de la administración del VB-201 presenta una puntuación PASI que está entre aproximadamente 10 y aproximadamente 20 (p.ej., entre aproximadamente 14 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 14 y aproximadamente 19, o entre aproximadamente 14,3 y aproximadamente 18,5) (p.ej., psoriasis moderada). En la presente memoria se describen otros rangos adecuados para la puntuación PASI.

Método 9c

15 Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto antes de la administración presenta una puntuación PASI que está entre aproximadamente 18 y aproximadamente 20 (p.ej., entre aproximadamente 18,5 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 19 y aproximadamente 20).

Área superficial corporal

20 Tal como se describe en la presente memoria, en algunos ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración del VB-201, padece psoriasis (p.ej., psoriasis de placas) que se caracteriza por (cubrir) un área superficial corporal (BSA, del inglés "body surface area") de entre aproximadamente 10% y aproximadamente 30%. Tal como se describe en la presente memoria, en algunos ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración, padece psoriasis que se caracteriza por un BSA inferior o igual a aproximadamente 16%, p.ej., entre aproximadamente 10% y aproximadamente 16%. Tal como se describe en la presente memoria, en otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración, presenta psoriasis que se caracteriza por un BSA de entre aproximadamente 10% y aproximadamente 28%, o entre aproximadamente 10% y aproximadamente 26%, o entre aproximadamente 10% y aproximadamente 24%, o entre aproximadamente 12% y aproximadamente 30%, o entre aproximadamente 14% y aproximadamente 30%, o entre aproximadamente 16% y aproximadamente 30%, o entre aproximadamente 12% y aproximadamente 28%, entre 14% y aproximadamente 28%, o entre aproximadamente 12% y aproximadamente 26%, o entre aproximadamente 14% y aproximadamente 26%, o entre aproximadamente 16% y aproximadamente 26%, o entre aproximadamente 12% y aproximadamente 24%, o entre aproximadamente 14% y aproximadamente 24%, o entre aproximadamente 16% y aproximadamente 24%. Tal como se describe en la presente memoria, en otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración, presenta psoriasis que se caracteriza por un BSA superior o igual a aproximadamente 24%, p.ej., entre aproximadamente 24% y aproximadamente 30%, entre aproximadamente 26% y aproximadamente 30%, o entre aproximadamente 28% y aproximadamente 30%.

Método 10a

40 Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto antes de la administración del VB-201 presenta un BSA inferior o igual a aproximadamente 16% (p.ej., entre aproximadamente 10% y aproximadamente 16%).

Método 10b

45 Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto antes de la administración del VB-201 presenta un BSA de entre aproximadamente 10% y aproximadamente 30% (p.ej., entre aproximadamente 14% y aproximadamente 26%, o entre aproximadamente 16% y aproximadamente 24%). En la presente memoria se describen otros rangos para el BSA.

50 Método 10c

Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto antes de la administración del VB-201 presenta un BSA superior a aproximadamente 24%.

55

Tratamiento previo con productos biológicos o inmunosupresores

Tal como se describe en la presente memoria, en algunos ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración, no ha sido tratado con un tratamiento biológico para la psoriasis. El término tratamiento biológico para la psoriasis, o con productos biológicos, significa cualquier fármaco biológico útil para el tratamiento de la inflamación y/o las enfermedades autoinmunes, p.ej., cualquier forma de psoriasis. Dichos productos biológicos incluyen, p.ej., alefacept, que bloquea moléculas que las células dendríticas usan para comunicarse con las células T y hace que las células asesinas naturales maten células T como forma de controlar la inflamación. Varios anticuerpos monoclonales (MAbs) están dirigidos contra citocinas inflamatorias. El TNF- α es la principal citocina inflamatoria ejecutora. Se han desarrollado cuatro MAbs (infliximab, adalimumab, golimumab y certolizumab pegol) y un receptor señuelo de TNF- α , etanercept, contra TNF- α para inhibir la señalización de TNF- α . Se han desarrollado anticuerpos monoclonales adicionales contra las citocinas pro-inflamatorias IL-12/IL-23 y contra la interleuquina-17. El fármaco biológico adalimumab (Humira) fue aprobado para tratar psoriasis moderada a grave. Otro producto biológico que ha sido aprobado para el tratamiento de psoriasis moderada a grave es el ustekinumab (Stelara), un bloqueador de IL-12/IL-23.

Método 11

Tal como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto no fue tratado con un agente biológico anti-psoriático (p.ej., no se sometió a tratamiento de la psoriasis con un producto biológico) antes de la primera administración del VB-201 (p.ej., durante cualquier periodo de tiempo previo a la primera administración de VB-201, o durante un periodo de tiempo mínimo inmediatamente previo a la primera administración de VB-201). Por ejemplo, el sujeto no se sometió a tratamiento de psoriasis con un producto biológico durante al menos aproximadamente 2 meses, al menos aproximadamente 4 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 8 meses, al menos aproximadamente 10 meses, al menos aproximadamente 12 meses, al menos aproximadamente 18 meses, al menos aproximadamente 24 meses, o al menos aproximadamente 32 meses antes de la primera administración de VB-201). En otro ejemplo, el sujeto no ha recibido nunca un tratamiento con producto biológico anti-psoriático previo a la primera administración de VB-201.

En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto, antes de la administración, no ha sido tratado con un fármaco inmunosupresor. El término "inmunosupresor" incluye todas las moléculas de fármaco conocidas por reducir la reacción inmune en un sujeto (p.ej., un sujeto humano), p.ej., fármacos útiles para tratar enfermedades auto-inmunes, tales como la psoriasis. El término inmunosupresor incluye compuestos biológicos, tales como anticuerpos inmunosupresores, así como inmunosupresores no biológicos. Los ejemplos de "inmunosupresores" no biológicos incluyen antimetabolitos, tales como análogos de ácido fólico (p.ej., metotrexato); análogos de purina (p.ej., azatioprina y mercaptopurina); análogos de pirimidina, inhibidores de la síntesis de proteínas, antibióticos citotóxicos (p.ej., dactinomicina, antraciclina, mitomicina C, bleomicina y mitramicina); inhibidores de calcineurina (CNI) (p.ej., ciclosporina, miriocina, tacrolimus, sirolimus), micofenolato y fingolimod.

Método 12

Por tanto, en la presente memoria se describe además el compuesto VB-201 para uso en un método de tratamiento de la psoriasis, comprendiendo dicho método la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de VB-201, en donde el sujeto no fue tratado con un fármaco inmunosupresor antes de la primera administración de VB-201 (p.ej., durante cualquier periodo de tiempo previo a la primera administración de VB-201, o no fue tratado durante al menos un periodo de tiempo mínimo previo a la primera administración de VB-201). Por ejemplo, el sujeto no se sometió a tratamiento de psoriasis con un inmunosupresor durante al menos aproximadamente 2 meses, al menos aproximadamente 4 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 8 meses, al menos aproximadamente 10 meses, al menos aproximadamente 12 meses, al menos aproximadamente 18 meses, al menos aproximadamente 24 meses, o al menos aproximadamente 32 meses antes de la primera administración de VB-201). En otro ejemplo, el sujeto no ha recibido nunca tratamiento con inmunosupresores (p.ej., para psoriasis o por otra razón) antes de la primera administración de VB-201.

Periodo de tratamiento

En algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria (p.ej., una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 6 a 12 descritos en la presente memoria), el periodo de tratamiento es al menos de aproximadamente 12 semanas. En otros ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el periodo de tratamiento es al menos de aproximadamente 16 semanas. En otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el periodo de tratamiento es al menos de aproximadamente 24 semanas. En otros ejemplos adicionales según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, el sujeto es tratado con VB-201 durante un periodo de tratamiento entre aproximadamente 12 semanas y aproximadamente 24 semanas.

Tal como se describe en la presente memoria, en algunos ejemplos según una cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria (p.ej., una cualquiera de las realizaciones de los Métodos 6 a 12 descritos en la presente memoria), la psoriasis es *psoriasis vulgaris* (psoriasis) de placa activa, estable, de moderada a grave. En algunos ejemplos, la psoriasis de placa activa, estable, de moderada a grave, afecta a entre aproximadamente 10% y aproximadamente 30% de la superficie del cuerpo del sujeto, y se caracteriza por una puntuación de Índice de Gravedad y Área de Psoriasis (PASI) de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 20.

Tal como se describe en la presente memoria, en otros ejemplos según cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria (p.ej., cualquiera de las realizaciones de los Métodos 6 a 12 descritos en la presente memoria), el sujeto presente un diagnóstico de psoriasis de placa crónica durante al menos aproximadamente 6 meses antes de la administración de VB-201 al sujeto. Las enfermedades o trastornos inflamatorios que se pueden tratar según los ejemplos de realizaciones descritas en la presente memoria incluyen la psoriasis (p.ej., psoriasis de placa), la artritis reumatoide, y la aterosclerosis y afecciones relacionadas, tal como la inflamación de una arteria (p.ej., inflamación de una arteria carótida y/o inflamación de una aorta).

Los ejemplos adicionales de enfermedades o trastornos inflamatorios que se pueden tratar según los ejemplos de realizaciones descritas en la presente memoria incluyen la esclerosis múltiple y la enfermedad inflamatoria del intestino (p.ej., enfermedad inflamatoria del intestino crónica).

Las enfermedades y trastornos inflamatorios representativos que se pueden tratar según cualquiera de los aspectos de las realizaciones descritas en la presente memoria incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos inflamatorios idiopáticos, enfermedades o trastornos inflamatorios crónicos, enfermedades o trastornos inflamatorios agudos, enfermedades o trastornos inflamatorios autoinmunes, enfermedades o trastornos inflamatorios infecciosos, enfermedades o trastornos inflamatorios malignos, enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con trasplantes, enfermedades o trastornos inflamatorios degenerativos, enfermedades o trastornos inflamatorios asociados con una hipersensibilidad, enfermedades o trastornos inflamatorios cardiovasculares, enfermedades o trastornos inflamatorios cerebrovasculares, enfermedades o trastornos inflamatorios vasculares periféricos, enfermedades o trastornos inflamatorios glandulares, enfermedades o trastornos inflamatorios gastrointestinales, enfermedades o trastornos inflamatorios cutáneos, enfermedades o trastornos inflamatorios hepáticos, enfermedades o trastornos inflamatorios neurológicos, enfermedades o trastornos inflamatorios músculo-esqueléticos, enfermedades o trastornos inflamatorios renales, enfermedades o trastornos inflamatorios reproductores, enfermedades o trastornos inflamatorios sistémicos, enfermedades o trastornos inflamatorios de tejido conectivo, tumores inflamatorios, necrosis, enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con implantes, procesos inflamatorios de envejecimiento, enfermedades o trastornos de inmunodeficiencia, enfermedades o trastornos proliferativos, y enfermedades o trastornos inflamatorios pulmonares, tal como se detalla a continuación en la presente memoria.

Los ejemplos no limitativos de hipersensibilidades incluyen la hipersensibilidad de Tipo I, la hipersensibilidad de Tipo II, la hipersensibilidad de Tipo III, la hipersensibilidad de Tipo IV, la hipersensibilidad inmediata, la hipersensibilidad mediada por anticuerpos, la hipersensibilidad mediada por complejo inmune, la hipersensibilidad mediada por linfocitos T, la hipersensibilidad de tipo retardado, la hipersensibilidad mediada por linfocitos T colaboradores, la hipersensibilidad mediada por linfocito T citotóxico, la hipersensibilidad mediada por linfocito TH1, y la hipersensibilidad mediada por linfocito TH2.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos inflamatorios cardiovasculares incluyen enfermedades o trastornos oclusivos, aterosclerosis, una enfermedad valvular cardíaca, estenosis, restenosis, estenosis en stent, infarto de miocardio, enfermedad arterial coronaria, síndromes coronarios agudos, insuficiencia cardíaca congestiva, angina de pecho, isquemia de miocardio, trombosis, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki, enfermedad o trastorno autoinmune anti-factor VIII, vasculitis de vaso pequeño necrotizante, poliangiitis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrotizante focal pauci-inmune, glomerulonefritis crescéntica, síndrome antifosfolípido, insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica autoinmune, autoinmunidad cardíaca, enfermedad o trastorno de Chagas, y autoinmunidad anti-linfocitos T colaboradores.

La estenosis es una enfermedad oclusiva de la vasculatura, provocada habitualmente por una placa ateromatosa y un aumento de la actividad plaquetaria, que afecta de forma más crítica a la vasculatura coronaria.

La restenosis es la re-oclusión progresiva a menos después de una reducción de las oclusiones en la vasculatura estenótica. En los casos en los que permeabilidad de la vasculatura requiere el soporte mecánico de un stent, se puede producir la estenosis en stent, re-ocluyendo el vaso tratado.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos cerebrovasculares incluyen apoplejía, inflamación cerebrovascular, hemorragia cerebral e insuficiencia arterial vertebral.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos vasculares periféricos incluyen gangrena, vasculopatía diabética, enfermedad de intestino isquémico, trombosis, retinopatía diabética y nefropatía diabética.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos autoinmunes incluyen todas las enfermedades causadas por una respuesta inmune tal como una inmunidad mediada por autoanticuerpos o células frente a un autoantígeno, y

- 5 similares. Los ejemplos representativos son la artritis reumatoide crónica, la artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico, escleroderma, enfermedad de tejido conectivo mixta, poliartritis nodosa, polimiositis/dermatomiositis, síndrome de Sjogren, síndrome de Bechet, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, enfermedad de Hashimoto, psoriasis, mixedema primario, anemia perniciosa, miastenia grave, hepatitis crónica activa, anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática, uveítis, vasculitis y trombocitopenia inducida por heparina.
- 10 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios glandulares incluyen enfermedades y trastornos pancreáticos, diabetes de Tipo I, enfermedades o trastornos de tiroides, enfermedad de Graves, tiroiditis, tiroiditis autoinmune espontánea, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopática, autoinmunidad de ovario, infertilidad anti-esperma autoinmune, prostatitis autoinmune y síndrome poliglandular autoinmune de Tipo I.
- 15 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios gastrointestinales incluyen colitis, ileítis, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria crónica, síndrome de intestino inflamatorio, síndrome de intestino inflamatorio, enfermedad celíaca, colitis ulcerativa, una úlcera, una úlcera cutánea, una escara, una úlcera gástrica, una úlcera péptica, una úlcera bucal, una úlcera nasofaríngea, una úlcera esofágica, una úlcera duodenal y una úlcera gastrointestinal.
- 20 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios cutáneos incluyen acné, una enfermedad cutánea bullosa autoinmune, pénfigo vulgar, penfigoide bulloso, pénfigo foliáceo, dermatitis de contacto y erupción por fármaco.
- 25 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios hepáticos incluyen hepatitis autoinmune, cirrosis hepática, y cirrosis biliar.
- 30 Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos inflamatorios neurológicos incluyen esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, miastenia grave, neuropatía motora, síndrome de Guillain-Barre, neuropatía autoinmune, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, enfermedad o trastorno neurológico paraneoplásico, atrofia cerebelar paraneoplásica, síndrome de hombre rígido no paraneoplásico, atrofia cerebelar progresiva, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydenham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatía autoinmune, neuropatía desinmune, neuromiotonia adquirida, artrogriposis múltiple, enfermedad de Huntington, demencia asociada a SIDA, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis múltiple, apoplejía, una enfermedad o trastorno inflamatorio retinal, una enfermedad o trastorno inflamatorio ocular, neuritis óptica, encefalopatía espongiiforme, migraña, cefalea, cefalea en racimos, y síndrome del hombre rígido.
- 35 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios de tejido conectivo incluyen miositis autoinmune, síndrome de Sjogren primario, enfermedad o trastorno autoinmune de músculo liso, miositis, tendinitis, una inflamación de ligamento, condritis, una inflamación articular, una inflamación sinovial, síndrome del túnel carpiano, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, una inflamación esquelética, una enfermedad o trastorno autoinmune del oído, y una enfermedad o trastorno autoinmune del oído interno.
- 40 Los ejemplos no limitativos de enfermedad o trastornos inflamatorios renales incluyen nefritis intersticial autoinmune y/o cáncer renal.
- Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios reproductivos incluyen pérdida fetal repetida, quiste de ovario, o una enfermedad o trastorno asociado a la menstruación.
- 45 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios sistémicos incluyen lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, choque séptico, síndrome de choque tóxico, y caquexia.
- 50 Los ejemplos no limitativos de enfermedad o trastorno infeccioso incluyen enfermedades o trastornos infecciosos crónicos, una enfermedad o trastorno infeccioso subagudo, una enfermedad o trastorno infeccioso agudo, una enfermedad o trastorno vírico, una enfermedad o trastorno bacteriano, una enfermedad o trastorno de protozoos, una enfermedad o trastorno parasitario, una enfermedad o trastorno micoplasmático, gangrena, sepsis, una enfermedad o trastorno de prion, gripe, tuberculosis, malaria, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, y síndrome respiratorio agudo severo.
- 55 Los ejemplos no limitativos de enfermedades o trastornos inflamatorios relacionados con trasplantes incluyen rechazo a injerto, rechazo a injerto crónico, rechazo a injerto subagudo, rechazo a injerto agudo, rechazo a injerto hiperagudo, y enfermedad o trastorno de injerto contra hospedante. Los ejemplos de implantes incluyen un implante protésico, un implante de mama, un implante de silicona, un implante dental, un implante de pene, un implante cardíaco, una articulación artificial, un dispositivo de reparación de fractura ósea, un implante de sustitución ósea, un implante de administración de fármaco, un catéter, un marcapasos, un corazón artificial, una válvula de corazón artificial, un implante de liberación de fármaco, un electrodo, y un tubo respirador.
- Los ejemplos no limitativos de tumores inflamatorios incluyen un tumor maligno, un tumor benigno, un tumor sólido, un tumor metastásico y un tumor no sólido.

Los ejemplos no limitativos de enfermedades y trastornos inflamatorios pulmonares incluyen asma, asma alérgico, enfisema, enfermedad o trastorno pulmonar obstructivo crónico, sarcoidosis, y bronquitis.

Un ejemplo de una enfermedad o trastorno proliferativo es cáncer.

5 En cualquiera de los aspectos de las realizaciones de la invención, los agentes descritos en la presente memoria pueden usarse opcionalmente en combinación con uno o más agente(s) adicional(es) para tratar la inflamación, por ejemplo, un agente conocido en las artes médicas por ser útil para tratar la inflamación.

Los términos “comprende”, “que comprende”, “incluye”, “que incluye”, “que tiene” y sus conjugados significan “que incluye pero no limitado a”.

El término “que consiste en” significa “que incluye y se limita a”.

10 La palabra “ejemplo” se usa en la presente memoria para indicar “que sirve como ejemplo, caso o ilustración”. Cualquier realización descrita como “ejemplo” no debe considerarse necesariamente como preferida o ventajosa respecto a otras realizaciones y/o para excluir la incorporación de características de otras realizaciones.

15 La palabra “opcionalmente” se usa en la presente memoria para indicar que “se proporciona en algunas realizaciones y no se proporciona en otras realizaciones”. Cualquier realización particular de la invención puede incluir una pluralidad de características “opcionales” a menos que dichas características entren en conflicto.

Tal como se usa en la presente memoria, la forma singular “un”, “una” y “el/la” incluyen las referencias en plural a menos que el contexto claramente indique lo contrario. Por ejemplo, el término “un compuesto” o “al menos un compuesto” puede incluir una pluralidad de compuestos, que incluye mezclas de los mismos.

20 A través de esta solicitud, se pueden presentar diversas realizaciones de esta invención en un formato de rango. Cabe destacar que la descripción en formato de rango es meramente por comodidad y brevedad, y no debería tomarse como una limitación inflexible al alcance de la invención. Por consiguiente, la descripción de un rango debería considerarse como que describe específicamente todos los sub-rangos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de dicho rango. Por ejemplo, la descripción de un rango tal como entre 1 y 6 debería considerarse que tiene subrangos descritos específicamente tales como entre 1 y 3, entre 1 y 4, entre 1 y 5, entre 2 y 4, entre 2 y 6, entre 3 y 6, etc., así como los números individuales dentro de dicho rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la envergadura del rango.

30 Cuando se indique un rango numérico en la presente memoria, se pretende que incluya cualquier número citado (fraccional o integral) dentro del rango indicado. Las frases “que oscila/oscila entre” un primer número indicado y un segundo número indicado, y “que oscila/oscila desde” un primer número indicado “hasta” un segundo número indicado, se usan en la presente memoria de forma intercambiable y se pretende que incluyan el primer y el segundo número indicados y todos los números fraccionales e integrales entre medias.

35 Tal como se usa en la presente memoria, el término “método” se refiere a los modos, medios, técnicas y procedimientos para llevar a cabo una tarea que incluyen, aunque sin limitación, dichos modos, medios, técnicas y procedimientos conocidos, o fácilmente deducidos a partir de modos, medios, técnicas y procedimientos conocidos por los especialistas del campo de la química, farmacéutica, biología, bioquímica y medicina.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “tratamiento” incluye eliminar, inhibir sustancialmente, frenar o revertir la progresión de una afección, aliviando sustancialmente los síntomas clínicos o estéticos de una afección, o previniendo sustancialmente la aparición de síntomas clínicos o estéticos de una afección.

40 Cabe destacar que determinadas características de la invención, que se describen, para mayor claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. Y a la inversa, diversas características de la invención, que se describen, para mayor brevedad, en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada, o según sea adecuado en cualquier otra realización descrita de la invención. Determinadas características descritas en el contexto de diversas realizaciones no deben considerarse características esenciales de dichas realizaciones, a menos que la realización sea inoperativa sin dichos elementos.

45 Diversas realizaciones y aspectos de la presente invención, tal como se han definido previamente en la presente memoria, y tal como se reivindican en la sección de reivindicaciones más adelante, tienen soporte experimental en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

50 Se hace ahora referencia a los siguientes ejemplos, que junto con las anteriores descripciones ilustran algunas realizaciones de la invención de un modo no limitativo.

Materiales y métodos

Materiales:

- Amino-PEG2-biotina, obtenida de Thermo Scientific;
- anticuerpos anti-CD14 (1:500), de Santa Cruz (Santa Cruz, CA);
- 5 anticuerpos marcados con fluoresceína isotiocianato (FITC) anti-CD14 humanos, obtenidos de eBioscience;
- anticuerpos anti-ERK1/2 (1:5.000), obtenidos de Cell Signaling Technologies (Danvers, MA);
- anticuerpos anti-I κ B α (1:1.000), obtenidos de Cell Signaling Technologies;
- anticuerpos anti-MyD88 (1:1.000) obtenidos de Cell Signaling Technologies;
- anticuerpos anti-fosfo-ERK1/2 (1:10.000), obtenidos de Sigma;
- 10 anticuerpos anti-fosfo-IKK α / β (1:1.000), obtenidos de Cell Signaling Technologies;
- anticuerpos anti-fosfo-p38 (1:1.000), obtenidos de Cell Signaling Technologies;
- anticuerpos anti-TLR2 (1:500), anticuerpos anti-TLR4 (1:200), y anticuerpos marcados con ficoeritrina anti-TLR2 (humano), obtenidos de R&D Systems;
- anticuerpos anti-tubulina (1:5.000), obtenidos de Sigma;
- 15 biotina-lipopolisacárido, obtenido de InvivoGen (San Diego, CA);
- químico-atractores, obtenidos de Peptotech;
- CpG (CpG ODN 1826), obtenido de InvivoGen;
- EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida), obtenido de Thermo Scientific;
- suero bovino fetal, obtenido de Biological Industries Ltd. (Israel);
- 20 medio Ficoll-Paque plus, obtenido de GE Healthcare;
- flagelina, obtenida de InvivoGen (San Diego, CA);
- GW5074, obtenido de Sigma;
- anticuerpos anti-conejo de burro-peroxidasa de rábano (HRP) (1:5.000) y anticuerpos anti-ratón de cabra-HRP (1:3.000), obtenidos de Jackson ImmunoResearch;
- 25 anticuerpos anti-cabra de burro-peroxidasa de rábano (HRP) (1:5.000), obtenidos de Santa Cruz;
- HUVEC recién aisladas de cordones sanguíneos de donantes y crecidas en medio EGM-2 (Lonza);
- IL-1 β (recombinante humana), obtenida de PeptoTech Asia;
- lipopolisacárido (LPS) de la cepa de *E. coli* 055:B5, obtenido de Sigma;
- ovoalbúmina, obtenida de Sigma;
- 30 Pam3CSK4, obtenido de InvivoGen (San Diego, CA);
- PAPC, obtenido de Avanti Polar Lipids y oxidado durante 24 o 72 horas antes del uso, para preparar PAPC oxidado (Ox-PAPC), según se indica.
- peptidoglicano de *S. aureus* (PGN-SA), obtenido de InvivoGen (San Diego, CA);
- plásmidos que codifican CD14 humano, obtenidos de Origene (Rockville, MD);
- 35 plásmidos que codifican TLR2-HA humano, obtenidos de InvivoGen (San Diego, CA);
- R848, obtenido de InvivoGen (San Diego, CA);
- medio RPMI-1640, obtenido de Biological Industries Ltd. (Israel);
- estreptavidina-APC, obtenido de eBioscience;

células THP-1, obtenidas de ATCC;

tioglicolato, obtenido de Difco.

VB-201 ([*(R)*-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina]) y VB-207 ([*(R)*-1-octil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina]) fueron sintetizados como se ha descrito previamente.

5 **Radio-marcaje de VB-201:**

El VB-201 radio-marcado ($[^3\text{H}]_2$ -VB-201) se preparó mediante hidrogenación del precursor insaturado Δ^9 -VB-201 (1-(9'-*cis*-hexadecenil)-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina) con tritio. Δ^9 -VB-201 se preparó como se ha descrito previamente.

Marcaje de VB-201 y VB-207 con ovoalbúmina-biotina:

10 Para marcar VB-201 y VB-207 con biotina, en primer lugar se conjugó VB-201 y VB-207 con ovoalbúmina usando EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) con una relación molar de 100:1:240 (VB-201/VB-207 : ovoalbúmina : EDC) durante 2-3 horas a temperatura ambiente. A continuación, se transfirieron las muestras a casetes de diálisis de 10 kDa (Thermo Scientific) y se dializaron contra PBS (salino de tampón de fosfato) durante una noche. El VB201 y el VB207 marcados con ovoalbúmina fueron conjugados entonces a amino-PEG2-biotina usando EDC en una
15 relación molar de 1:100:700 (ovoalbúmina : amino-PEG2-biotina : EDC). La reacción se dejó progresar durante 2-3 horas a temperatura ambiente. A continuación, se transfirieron las muestras a casetes de diálisis de 10 kDa y se dializaron contra PBS durante una noche.

Aislamiento de monocitos CD14+ humanos:

20 Se obtuvieron muestras de sangre venosa de donantes sanos, hombres y mujeres, que firmaron su consentimiento para ser evaluados, no estaban sometidos a tratamiento con esteroides, y no presentaban infección vírica o bacteriana durante al menos un mes antes del ensayo. Se aislaron PBMCs (células mononucleares sanguíneas periféricas) en medio de centrifugación de gradiente de densidades Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare) usando tubos Leucosep de 50 mL (Greiner Bio One). Las células fueron lavadas en salino de tampón de fosfato (PBS), e incubadas a 4 °C durante
25 15 minutos en un tampón que contenía PBS, 0,5 % de albúmina de suero bovino (BSA) y EDTA (ácido etilendiamintetraacético) con micropartículas de CD14 humanas (Miltenyi Biotec). A continuación, las células fueron lavadas y resuspendidas en el mismo tampón, y entonces se aislaron los monocitos CD14+ a través de columnas LS (Miltenyi Biotec).

Células dendríticas (DCs) humanas derivadas de monocitos CD14+:

30 Para generar células dendríticas derivadas de monocitos, se contabilizaron monocitos CD14+ (aislados como se ha descrito anteriormente), se lavaron y se sembraron a una concentración de 10^6 /mL, durante 5-7 días, en medio RPMI-1640 con L-glutamina, β -mercaptoetanol, FCS al 10 % (suero fetal de ternero), piruvato sódico, aminoácidos no esenciales, HEPES 0,01 M, antibióticos (penicilina y estreptomycin), y 50 ng/mL de GM-CSF humano (factor estimulante de colonia de granulocito-macrófago) y 20 ng/mL de IL-4 humana. El medio fue reemplazado cada dos días.

35 **Aislamiento de células T CD4+ y células B CD19+ humanas:**

Se aislaron células T y células B usando los mismos procedimientos descritos anteriormente para aislar monocitos CD14+, excepto que se usaron micropartículas de CD4 humano (Miltenyi Biotec) en lugar de micropartículas de CD14 para aislar células T, y se usaron micropartículas de CD19 (Miltenyi Biotec) en lugar de micropartículas de CD14 para aislar células B.

40 **Aislamiento de leucocitos de ratón:**

Para generar células dendríticas derivadas de médula ósea (BMDC) de ratón, se extrajo la médula ósea de fémur y tibia de ratón con medio RPMI-1640 frío. Se preparó una suspensión celular y se eliminaron los eritrocitos usando tampón de lisis de células sanguíneas rojas (RBC) (Beit Haemek, Israel). Las células fueron lavadas en salino de tampón fosfato (PBS) (Beit Haemek, Israel), y se incubaron a 4 °C durante 15 minutos en tampón que contenía PBS y un 0,5 % de albúmina de suero bovino (BSA) con micropartículas de B220 y CD90 (Miltenyi biotech). A continuación,
45 las células fueron lavadas, resuspendidas en el mismo tampón, y agotadas de una unidad de separación Mid-Macs a través de una columna LD o LS (Miltenyi biotech). Las células agotadas fueron entonces contabilizadas, lavadas y sembradas (10^6 /mL) en medio que contenía RPMI-1640, L-glutamina, β -mercaptoetanol, suero fetal de ternero (FCS) al 10 %, antibióticos (penicilina, estreptomycin) y 20 ng/mL de GM-CSF de ratón (Peprotech, Israel). El medio fue reemplazado cada dos días y las células fueron usadas para experimentos posteriores en los días 5-6 tras el cultivo.
50 Las células dendríticas (DCs) fueron enriquecidas usando micropartículas de CD11c (Miltenyi biotech). Se aislaron células B y T esplénicas de ratón usando micropartículas de B220 y CD90, respectivamente.

Ensayo de incorporación de VB-201 radiomarcado:

Se cultivaron células (10^6) durante 2 horas con [^3H] $_2$ -VB-201 mezclado con VB-201 no marcado (3,4 μM). Al final de la incubación de 2 horas, las células fueron recolectadas y lavadas dos veces en PBS. Las células fueron resuspendidas en 100 μL de tampón de lisis, y se evaluaron 20 μL del tampón de lisis para determinar la radioactividad usando un contador β (DPM).

Transfección de plásmido:

Se transfectaron células HEK 293 usando Lipofectamina 2000 (Invitrogen) durante 24-48 horas con plásmidos que codifican CD14 humano y TLR2-HA humano. Se determinó la eficacia de transfección usando anticuerpos anti-CD14 humano marcados con fluoresceína isotiocianato (FITC) y anticuerpos anti-TLR2 humano marcados con ficoeritrina.

Activación de células y ensayo Western blot:

Las células ($10^6/\text{mL}$) fueron pretratadas durante 20 minutos con VB-201 o VB-207 seguido de una activación de 15 minutos con 100 ng/mL de lipopolisacárido (LPS), 200 ng/mL de IL-1 β humana recombinante, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de peptidoglicano (PGN-SA), 300 ng/mL de Pam3CSK4, 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de R848, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de CpG ODN, o 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de flagelina. Las células fueron lavadas y re-suspendidas en tampón de lisis que contenía ditioneitol 1:100 (DTT) (Bio-Lab), e inhibidores de fosfatasa y proteasa (Thermo Scientific). Las muestras fueron cargadas en un gel preconformado de Criterion TGX (BIO-RAD, R.U.), y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las manchas fueron bloqueadas con 5 % de leche o albúmina de suero bovino (BSA) en TBST (salino de tampón Tris con TWEEN 20) durante 1 hora, seguido de incubación con anticuerpos primarios y secundarios. Las membranas fueron desarrolladas usando el kit ECL (Thermo Scientific).

Precipitación de OB-VB201 y OB-VB207

Las células fueron lisadas con tampón de lisis NP-40 al 1 % que contenía inhibidores de proteasa y fosfatasa 1:100, seguido de 20 minutos de incubación en hielo y 15 minutos de centrifugación a máxima velocidad. Las muestras fueron incubadas durante una noche a 4 $^{\circ}\text{C}$ con disolvente, OB-VB201 u OB-VB207 en un sistema rotatorio. Se añadieron partículas de estreptavidina-agarosa (Sigma) durante 2 horas. Se llevó a cabo la elución de proteínas con tampón de lisis sin DTT durante 10 minutos a temperatura ambiente. La carga, transferencia e inmuno-tinción de la muestra se llevó a cabo como se ha indicado anteriormente.

Especificidad de unión a superficie celular de VB-201 mediante citometría de flujo:

Para determinar la interferencia de VB-201 con la unión de LPS, se incubó VB-201 durante 20 minutos con células ($10^6/\text{mL}$) y a continuación se añadieron 100 ng/mL de biotina-lipopolisacárido (LPS) durante otros 15 minutos, todo a 4 $^{\circ}\text{C}$. Las células fueron lavadas y la unión de LPS se detectó usando estreptavidina-APC. La evaluación de la unión de OB-VB201 y de OB-VB207 a las células también se realizó con estreptavidina-APC. Para prevenir la unión de OB-VB201 a CD14, se empleó el clon 18D11 de anticuerpo de bloqueo de CD14 humano (HyCult biotech, Países Bajos) o un anticuerpo anti-6x Histidina (R&D Systems) durante 15 minutos antes de añadir OB-VB201 durante otros 15 minutos adicionales.

Estudio de aterosclerosis:

Se administró VB-201 (0, 0,15 o 1,5 mg/kg) a ratones ApoE KO machos de 9-11 semanas de edad (criados en interior en el "Bert W. Strassburger Lipid Center", Sheba Medical Center, Israel) mediante sonda gástrica. La dosificación se realizó una vez al día, durante 8 semanas (n=11-12/grupo). Las lesiones ateroscleróticas se cuantificaron calculando el tamaño de la lesión en el seno aórtico como se ha descrito previamente por Davenport y Tipping [*The American Journal of Pathology*, 2003, 163: 1117-1125]. El área de lesión se calculó usando un método de análisis computerizado (software Image Pro Plus, V. 4.5.1.29, Medical Cybernetics Corporation). El área de lesión aórtica se determinó usando el software Image-Pro Plus, que midió el área de tinción cubierta por una mancha de Sudan IV que se adhiere al tejido lesionado. Se midió el tamaño de la lesión en la aorta y se calculó el porcentaje de área lesionada respecto al tamaño de la aorta completa. Todos los experimentos con animales fueron aprobados por el "Institutional Animal Care and Use Committee of the Sheba Medical Center", Ramat Gan, Israel.

Ensayo de migración celular *in vitro*:

Se aislaron monocitos humanos (células CD14+) y células T CD4+ a partir de sangre entera de donantes sanos. Tras la separación de PBMCs de la sangre entera usando Ficoll-Paque y tubos leucosep (Greiner Bio-One), las células CD14+/CD4+ se separaron usando micropartículas específicas anti-CD14/anti-CD4, respectivamente (Miltenyi Biotec). La pureza de las poblaciones aisladas fue validada usando anticuerpos específicos mediante análisis FACS. Las células aisladas fueron pre-incubadas durante 30 minutos con disolvente (1 % de etanol/PBS) o con VB-201 tal como se indica. Para la quimio-atracción de monocitos, se disolvió RANTES (100 ng/mL), MIP-1 α (50 ng/mL) o MCP-1 (50 ng/mL) en suero fetal bovino al 0,5 % (FBS)/medio RPMI-1640 y se colocó en la cámara inferior de una placa de ensayo de migración de 24 pocillos QCMTM (Corning-Costar; poros de 5 μm). Para la quimio-atracción de células CD4+, se usó una disolución de FBS al 0,5 %/medio RPMI-1640 que contenía RANTES (100 ng/mL) y SDF-1 α (50

ng/mL), usando la misma instalación de placa. El ensayo de migración se llevó a cabo sembrando 300.000 células tratadas en la cámara superior, seguido de una incubación de 3-4 horas. Posteriormente, el número de células que migraron al medio en el compartimento inferior se determinó mediante FACS.

Ensayo de fagocitosis:

5 Se llevaron a cabo ensayos de fagocitosis usando el kit de etiquetado de partículas de fagocitosis pHrodo™ (Invitrogen) según el protocolo del fabricante. Resumidamente, se incubaron muestras de sangre entera de donantes sanos durante 15 minutos con disolvente o VB-201, tal como se indica. A continuación, se mezclaron bacterias *E. coli* marcadas con colorante pHrodo con las muestras sanguíneas tratadas, en una relación de 20:1 de partículas pHrodo™ respecto a células fagocitantes y se incubó durante otros 15 minutos adicionales. Se analizaron todas las muestras
10 tanto a 4 °C (sin fagocitosis, control negativo) y a 37 °C. Tras la incubación, se eliminaron las células sanguíneas rojas mediante lisis y las muestras fueron lavadas 3 veces con tampón de lavado. Para determinar subpoblaciones específicas, las células fueron marcadas con anticuerpos anti-CD14-FITC (marcador de monocitos y granulocitos; BD Biosciences) y anti-CD66b-PerCP/Cy5.5 (marcador de granulocitos; BioLegend). La intensidad de fluorescencia de pHrodo se analizó mediante FACS.

15 Ensayo de viabilidad celular:

Tras la incubación con las dosis indicadas de VB-201 durante 3,5-4 horas, se analizó la viabilidad celular usando el Ensayo de Proliferación Celular MTS (Promega) o el kit de tinción Annexina-V/7-AAD (BD Pharmingen) según el protocolo del fabricante.

Citometría de flujo:

20 Se incubaron monocitos CD14+ humanos durante 3,5 horas en FCS al 2 %/medio RPMI con disolvente o VB-201. Las células fueron lavadas a continuación, resuspendidas en PBS que contenía un 2 % de FCS y un 0,02 % de azide sódico (tampón FACS) y se tiñeron durante 30 minutos a 4 °C con anti CCR1-Alexa Fluor 647 (BD Biosciences), anti CCR5-PE, anti CXCR1-PE y anti CXCR2-Alexa Fluor 647 (todos de BioLegend). Las células fueron lavadas, resuspendidas en tampón FACS y analizadas en un FACS-Calibur.

25 Ensayo de adhesión de monocitos:

Se presembraron placas de matriz con HUVEC y se sometieron a una estimulación de 4 horas con 10 ng/mL de TNF α para inducir la expresión de moléculas de adhesión. Los monocitos recién aislados fueron teñidos durante 30 minutos con calceína AM 5 μ M (Invitrogen) en RPMI libre de suero y a continuación se lavaron dos veces con PBS para eliminar el exceso de colorante. Los monocitos fueron tratados con control de disolvente o con concentraciones crecientes de
30 VB-201 u OxPAPC durante 30 minutos. Se cargaron 10⁵ monocitos teñidos por pocillo en platos de 96 pocillos y se dejaron adherir durante 15 minutos. Después de 4 lavados con PBS, se leyó la intensidad de monocitos adherentes usando un dispositivo FLUOROSKAN Ascent FL con excitación a 485 nm y emisión a 538 nm.

Ensayo de activación de GPCR:

35 Los análisis fueron llevados a cabo mediante Millipore GPCR Profiler Service, midiendo la señal de calcio intracelular en tiempo real usando el dispositivo FLIPR^{TETRA}. El porcentaje de activación de agonista de VB-201 se calculó respecto al control de E_{max} para cada GPCR evaluado. El porcentaje de inhibición de antagonista se refirió a los pocillos de control de EC₈₀ para cada GPCR evaluado.

Ensayo de acumulación de cAMP:

40 Se incubaron células dendríticas (DCs) derivadas de monocitos crecidas en placas de 24 pocillos durante 2 h con medio RPMI-1640 que contenía 5 μ Ci/mL de [³H] adenina (American Radiolabeled Chemicals, Inc.). Después de lavado de RPMI, el medio fue reemplazado con FBS al 10%/medio RPMI suplementado con disolvente (etanol al 1%/PBS), forskolina 10 μ M (Sigma), VB-201 o PAPC oxidado según se indique. Las células fueron incubadas durante 4 horas a 37 °C en presencia de los inhibidores de fosfodiesterasa IBMX (Calbiochem; 0,5 mM) y RO-20-1724 (Biomol; 0,5 mM) para prevenir la degradación de cAMP. Para la cuantificación de la formación de [³H]cAMP, se terminó la
45 incubación eliminando el medio y añadiendo ácido perclórico al 2,5 % que contenía cAMP sin marcar 0,1 mM (Sigma), seguido de neutralización con KOH 4,2 M y K₂CO₃ 1,85 M. El [³H]cAMP intracelular se separó de otros nucleótidos marcados mediante cromatografía en columna de dos etapas, usando la resina de intercambio iónico Dowex 50WX4 (Bio-Rad) y columna de alúmina (Sigma) y se cuantificó midiendo la radioactividad de los eluatos.

Determinación de los niveles de colesterol y triglicéridos:

50 Se determinaron los niveles totales de colesterol y triglicéridos en plasma usando una técnica enzimática automatizada (Roche Cobas Mira Analyzer). El contenido de triglicéridos y colesterol se midió usando un ensayo de micro-placa (kits de reactivos de ensayo enzimático Roche/Hitachi: termo – Reactivo de Triglicéridos TR22421 y Reactivo de Colesterol 12016630 122).

Inmunohistoquímica:

La inmunotinción se realizó sobre secciones congeladas que fueron fijadas con acetona fría y bloqueadas con 4 % de suero de conejo normal/PBS (Vector Lab). Tras incubación con CD68 anti-ratón de rata (Serotec NCA1957; 1:250) y anticuerpo biotinilado anti-rata (Vector Lab AB-4001; 1:200), la señal se desarrolló usando el kit de Vectastáina ABC-fosfatasa alcalina y el sustrato Vector Red (Vector Lab). Se usó hematoxilina de Mayer para la contratinción.

Análisis estadístico:

Se calculó la media \pm desviación estándar/error estándar usando Excel o el software Sigma-Stat, y se calculó la significación estadística mediante ensayo t de Student de dos colas. Para comparar entre grupos experimentales se usó ANOVA de un sentido o ensayo t. Un valor de $P < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

EJEMPLO 1**Captación de VB-201 por células inmunes**

A fin de caracterizar los efectos del VB-201 en el sistema inmune, se expusieron subconjuntos aislados de células mononucleares de ratón y humano a VB-201 radio-marcado con [^3H] $_2$ y posteriormente se analizaron para determinar la incorporación de VB-201 radiomarcado, como se describe en la sección de Materiales y Métodos.

Se trataron con $^3\text{H}_2$ -VB-201 células procedentes de las siguientes fuentes:

Monocitos CD14+ humanos;

Células dendríticas (DCs) humanas derivadas de monocitos CD14+;

Células T CD4+ humanas;

Células B CD19+ humanas;

Células dendríticas CD11c+ de ratón derivadas de médula ósea (BMDCs);

Células T CD90+ de ratón;

Células B B220+ de ratón;

Las células fueron obtenidas tal como se describe en la sección de Materiales y Métodos.

Como se muestra en las Figuras 1A y 1B, la captación de VB-201 es considerablemente mayor en células dendríticas humanas (Figura 1A) y de ratón (Figura 1B) y en monocitos humanos (Figura 1A) que en células T y células B humanas y de ratón.

Estos resultados indican que existe una diferencia significativa en la asociación de VB-201 entre células mieloides y linfoides. El VB-201 se asocia principalmente a células mieloides tales como las células dendríticas y los monocitos, las células presentadoras de antígeno profesionales, y considerablemente menos a linfocitos. Por tanto, estos resultados indican especificidad para la población de células diana de VB-201.

EJEMPLO 2**Efecto de VB-201 sobre la señalización de receptor de tipo Toll (TLR)**

A fin de comprender mejor el mecanismo antiinflamatorio del VB-201, se determinó el efecto de VB-201 en las rutas de señalización de diferentes receptores de tipo toll (TLRs).

Se activaron los receptores tipo Toll en BMDCs (células dendríticas de médula ósea) de ratón mediante agonistas específicos, y se determinó el efecto de la activación de receptor vía ensayo Western blot para fosforilación de p38 MAP quinasa, que está por debajo de los TLRs. De forma similar, se determinó el efecto del VB-201 en la activación de receptor de IL-1 (IL-1R), que comparte la molécula adaptadora MyD88 con los TLRs, vía ensayo Western blot para fosforilación de p38 MAP quinasa.

Las BMDCs fueron pretratadas con VB-201 o disolvente y a continuación fueron estimuladas como se describe en la sección de Materiales y Métodos, usando los siguientes agonistas: se usó Pam3CSK4 como agonista del dímero TLR2:TLR1; se usó peptidoglicano (PGN) como agonista del dímero TLR2:TLR6; se usó lipopolisacárido (LPS) como agonista de TLR4; se usó flagelina como agonista de TLR5; se usó R848 como agonista de TLR7; se usó CpG como agonista de TLR9; y se usó IL-1 β como agonista de IL-1R.

Tal como se muestra en las Figuras 2A-2G, el VB-201 inhibió la fosforilación de p38 de un modo dependiente de la dosis en BMDCs de ratón tras activación de TLR4 (Figura 2C) o de dímeros de TLR2 (Figuras 2A y 2B), pero no tuvo

ningún efecto aparente sobre la fosforilación de p38 tras activación de TLR5 (Figura 2D), TLR7 (Figura 2E), TLR9 (Figura 2F) o receptor de IL-1 (Figura 2G).

Estos resultados sugieren que el VB-201 inhibe específicamente la señalización de las rutas de TLR2 y TLR4.

5 Los resultados anteriores fueron confirmados con los resultados obtenidos tras activación de receptor en monocitos CD14+ humanos y en macrófagos peritoneales de ratón. Los TLRs fueron activados mediante agonistas específicos, tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria, dando como resultado las fosforilaciones aguas debajo de p38, Erk1/2 e IKK α / β , junto con la degradación de I κ B α . El efecto del VB-201 sobre dichos mecanismos de señalización se observó mediante ensayo Western blot.

10 Tal como se muestra en la Figura 3, VB-201 inhibió la activación de p38, ERK1/2 y la ruta de NF κ B de un modo dependiente de la dosis, tras activación de TLR4, pero no tuvo ningún efecto aparente tras la activación de TLR5.

Tal como se muestra en la Figura 4, VB-201 inhibió la activación de p38, ERK1/2 y la ruta de NF κ B de un modo dependiente de la dosis, tras activación de TLR4 o del dímero TLR2:TLR1.

15 La inhibición de la señalización de TLR2 se confirmó adicionalmente examinando el efecto de VB-201 sobre la señalización de TLR2 inducida por amiloide A en monocitos CD14+ humanos y en células THP-1. El efecto de VB-201 sobre la señalización de TLR2 se observó a través de ensayo Western blot, tal como se ha descrito previamente en la presente memoria.

Como se muestra en la Figura 5, VB-201 inhibió la activación de p38, ERK1/2 y la ruta de NF κ B, tras activación de TLR2 mediante amiloide A en suero, tanto en células CD14+ humanas como en células THP-1.

20 Estos resultados indican que el VB-201 inhibe los eventos de señalización mediados por TLR2 inducidos por estructuras no microbianas (p.ej., como con SAA).

Considerados en conjunto, los anteriores resultados indican que la inhibición de la señalización de TLR por VB-201 está restringida a TLR2 y TLR4, que están presentes en la superficie de la membrana plasmática.

EJEMPLO 3

Unión de VB-201 a dianas moleculares

25 En vista de los resultados presentados en el Ejemplo 2, que muestra que el VB-201 inhibe las rutas de TLR2 y TLR4, se llevaron a cabo experimentos con el objetivo de determinar qué moléculas se unen a VB-201. Para este propósito, se marcó VB-201 y su forma inactiva truncada VB-207 R1 con ovoalbúmina biotinilada, tal como se describe en la sección de Materiales y Métodos.

30 El VB-201 y el VB-207 marcados con ovoalbúmina biotinilada (OB-VB201 y OB-VB207, respectivamente) fueron evaluados inicialmente para determinar su actividad contra la señalización de TLR2 y TLR4 en macrófagos de ratón RAW 264.7, usando métodos similares a los descritos en el Ejemplo 2.

Tal como se muestra en las Figuras 6A y 6B, tanto VB-201 como OB-VB201 inhibieron la señalización inducida por LPS de un modo dependiente de la dosis, mientras que ni VB-207 ni OB-VB207 presentaron dicho efecto inhibitorio.

Se obtuvieron resultados similares después de la señalización inducida por PGN (datos no mostrados).

35 Estos resultados confirman que el VB-201 y el VB-207 marcados presentan efectos biológicos similares al VB-201 y al VB-207 sin marcar, respectivamente.

A continuación se aplicó OB-VB201 y OB-VB207 a lisatos procedentes de monocitos humanos primarios y a una línea de monocitos humanos (células THP-1) y se precipitaron como se describe en la sección de Materiales y Métodos, a fin de evaluar su potencial de unión a TLR4 y TLR2.

40 Tal como se muestra en las Figuras 7A y 7B, el OB-VB201 se unió a TLR2 tanto en monocitos primarios humanos (Figura 7A) como en células THP-1 (Figura 7B), mientras que el OB-VB207, en línea con su carencia de función, no se unió a TLR2. Tal como se muestra adicionalmente en dichas figuras, no se detectó unión de OB-VB201 ni de OB-VB207 a TLR4.

45 A fin de determinar el mecanismo mediante el cual el VB-201 afecta a la señalización de TLR4 sin unirse a TLR4, se analizaron lisatos precipitados para determinar CD14, un co-receptor esencial para la actividad de TLR4, para determinar MyD88, una molécula adaptadora de señalización por debajo de TLR promiscua, y para determinar CD36, que se ha descrito ampliamente por interaccionar con fosfolípidos oxidados, y que interacciona con TLR4.

Como se muestra adicionalmente en la Figura 7A, el OB-VB201 se unió a CD14 en monocitos primarios humanos, mientras que el OB-VB207 no se unió a CD14.

Como se muestra adicionalmente en las Figuras 7A y 7B, ni MyD88 (Figuras 7A y 6B) ni CD36 (Figura 7B) se unieron a OB-VB201 o a OB-VB207.

Como el CD14 ha sido descrito como co-receptor para TLR2 y para TLR4, se determinó que la detección de TLR2 y CD14 tras incubación con OB-VB201 no se debía a una co-precipitación. Por consiguiente, CD14 y TLR2 fueron transfectados por separado en células HEK293 (tal como se describe en la sección de Materiales y Métodos) y a continuación se precipitaron los lisatos celulares con OB-VB201.

Tal como se muestra en la Figura 8, el OB-VB201 se unió a CD14 y a TLR2.

Los resultados indican adicionalmente que el efecto de VB-201 sobre la señalización de TLR4 es a través de la unión a CD14, y que el efecto del VB-201 sobre la señalización de TLR2 es a través de la unión directa a TLR2.

El CD14 es conocido por unirse a lipopolisacáridos (LPS). Para determinar si VB-201 altera la capacidad de las células para unirse a LPS, se pusieron en contacto macrófagos RAW 264.7 con LPS biotinilado, y a continuación se tiñó usando estreptavidina-APC (aloficocianina), y las células fueron analizadas después mediante citometría de flujo.

Tal como se muestra en la Figura 9, el VB-201 inhibió la unión del LPS biotinilado a macrófagos de un modo dependiente de la dosis.

Estos resultados indican que la unión del VB-201 a CD14 inhibe la actividad de CD14 alterando la capacidad del CD14 para unirse a LPS.

A fin de confirmar que el VB-201 se une a CD14, se pusieron en contacto células HEK293 transfectadas que expresan niveles altos de CD14 con VB-201 o VB-207 biotinilado (OB-VB201 y OB-VB207, respectivamente), y a continuación se tiñeron usando estreptavidina-APC, y las células fueron teñidas positivamente a continuación en presencia de 10 µg/mL (Figura 10A) o 5 µg/mL (Figura 10B) de OB-VB-201, mientras que no pudo observarse tinción en células incubadas con OB-VB207 (Figuras 10C y 10D).

Adicionalmente, la correlación entre el grado de expresión de CD14 y el grado de unión de VB-201 se examinó distinguiendo entre alta y baja expresión de CD14 mediante citometría de flujo, tal como muestra la Figura 11A.

Tal como se muestra en las Figuras 11B y 11C, las células que presentan una expresión elevada de CD14 se unieron más a OB-VB201 que las células que presentan una expresión baja de CD14.

Para confirmar que el VB-201 se une a CD14, se examinó el efecto de anticuerpos anti-CD14 sobre la unión de VB-201 en células HEK-Blue-4 y en monocitos primarios humanos. Como control se usaron anticuerpos que no eran específicos para CD14.

Tal como se muestra en las Figuras 12A-12D, los anticuerpos anti-CD13 redujeron la unión de OB-VB201 a células HEK-Blue-4 que sobreexpresan CD14 (Figura 12A) y monocitos primarios humanos (Figura 12C) de un modo dependiente de la dosis, mientras que los anticuerpos de control no tuvieron efecto alguno sobre la unión de OB-VB201 a las células (Figuras 12B y 12D).

Los resultados anteriores proporcionan una confirmación adicional de que el VB-201 se une a CD14.

EJEMPLO 4

Efecto de fosfolípidos oxidados sobre la quimiotaxis

A fin de investigar los efectos de fosfolípidos oxidados tales como el VB-201 sobre la quimiotaxis, se evaluaron monocitos en ausencia de otros tipos de células (que podrían complicar la interpretación de los resultados), en ensayos trans-pocillo *in vitro* usando monocitos aislados, fosfolípidos definidos y quimioattractores recombinantes.

Para este fin, se pre-incubaron monocitos de donantes sanos durante 30 minutos con disolvente (etanol al 1 %/PBS) o con 5 µg/mL de VB-201 (un fosfolípido oxidado), PGPC (1-palmitoil-2-glutaril-fosfatidilcolina, un fosfolípido oxidado), fosfatidilcolina (un fosfolípido no oxidado) o con 40 µg/mL de PAPC (1-palmitoil-2-araquidonil-fosfatidilcolina) después de 24 horas de oxidación (un fosfolípido parcialmente oxidado). Después de la incubación, las células fueron cargadas en la cámara superior y se dejaron migrar durante 3,5 horas hacia suero bovino fetal al 0,5 %/medio RPMI-1640 suplementado con MCP-1 humano recombinante y RANTES (50 ng/mL de cada uno).

Además de evaluar células CD14⁺ humanas primarias, también se examinó el efecto de VB-201 sobre la línea celular de monocitos humanos THP-1 en un ensayo trans-pocillo.

Tal como se muestra en la Figura 13, el VB-201 inhibió significativamente la migración *in vitro* de células THP-1 de un modo dependiente de la dosis.

La viabilidad de las células THP-1 se determinó mediante un ensayo MTS, que mostró que el VB-201 no afecta a la viabilidad de las células (datos no mostrados), confirmando de este modo que la reducción observada en las células migrantes reflejó la reducción de la migración celular y no la reducción de la viabilidad celular.

5 La inhibición de la quimiotaxis de monocitos por parte de VB-201 ha sido descrita adicionalmente en la Solicitud de Patente Internacional PCT/IL2011/000012 (publicada como WO 2011/083469).

Sin embargo, los resultados anteriores indica que una variedad de fosfolípidos oxidados, que incluyen el VB-201 y el PGPC, inhiben la quimiotaxis de monocitos.

EJEMPLO 5

Efecto de VB-201 sobre la actividad de monocito

10 Para determinar si el VB-201 presenta alguna actividad de antagonista (o de agonista) hacia los receptores de quimiocinas, se sometió al VB-201 a un perfilado acoplado a proteína G usando líneas celulares estables ChemiScreen que expresan diferentes receptores de quimiocina, y mediante medida de flujo de Ca⁺⁺.

15 Tal como se muestra en la Figura 14A, el tratamiento con VB-201 dio lugar a menos de un 5 % de activación con respecto a los controles positivos, lo que sugiere que no es un agonista de ninguno de los receptores de quimiocina evaluados.

Se llevó a cabo un ensayo de antagonista de CCR2B en presencia de dosis crecientes de VB-201, VB-207 (molécula inactiva, control negativo) o RS102895 (antagonista de CCR2B, control positivo). C. Ensayo de antagonista de CCR5 llevado a cabo en presencia de dosis crecientes de VB-201 o de VB-207. Tal como se muestra en las Figuras 14B y 14C, el VB-201 no indujo un efecto de antagonista contra CCR2B o CCR5, en las líneas celulares ChemiScreen.

20 Estos resultados indican que el VB-201 no afecta a la quimiotaxis actuando directamente sobre los receptores de quimiocina.

Adicionalmente, se evaluó el efecto del VB-201 sobre los niveles de cAMP en células dendríticas derivadas de monocitos.

25 Tal como se muestra en la Figura 15, los niveles de cAMP intracelulares fueron incrementados mediante PAPC oxidado (1-palmitoil-2-araquidonil-fosfatidilcolina) de un modo dependiente de la dosis y mediante forskolina (un activador de adenilato ciclasa, usado como control positivo), mientras que los niveles de cAMP no se vieron afectados por el tratamiento con 1-5 µg/mL de VB-201.

30 Adicionalmente, se evaluó la capacidad de VB-201 para actuar como atractor celular colocándolo en la cámara inferior de un ensayo trans-pocillo. Sin embargo, no se produjo ninguna quimiotaxis de monocitos hacia VB-201 (datos no mostrados).

35 Los anteriores resultados indican que el VB-201 no afecta a la señalización celular basada en calcio o basada en cAMP en monocitos, no es un quimioatractor o un antagonista de receptor de quimiocinas para monocitos, y no afecta a las funciones de monocito que no son la quimiotaxis. Considerados en conjunto, los resultados indican que el VB-201 inhibe específicamente la quimiotaxis en monocitos, inhibiendo un proceso intracelular por debajo de los receptores de quimiocina, y no inhibiendo la actividad de monocitos en general.

EJEMPLO 6

Efecto de la inhibición de la ruta MEK-ERK mediante VB-201 sobre la quimiotaxis de monocitos

40 En vista de la inhibición específica de la señalización asociada a quimiotaxis por parte del VB-201, como indican los resultados presentados en el Ejemplo 4, se investigó el efecto del VB-201 sobre las rutas de señalización inducidas por quimiocinas.

Se pretrataron monocitos humanos con 5 µg/mL de VB-201 (o disolvente como control) y a continuación se estimularon con las quimiocinas MCP-1, MCP-3 o Fractalcina (CX3CL1). Se determinaron los lisatos a diferentes tiempos tras la estimulación de quimiocinas y los niveles de fosforilación de Akt, MEK1/2, ERK1/2 y p38. Como control se determinaron los niveles totales de Akt, MEK1/2, ERK1/2 y p38.

45 Tal como se muestra en la Figura 16A, el pretratamiento de VB-201 produjo una reducción considerable de los niveles de fosforilación de Akt, MEK1/2 y ERK1/2, pero no de los niveles de fosforilación de p38, tanto en células estimuladas con MCP-1 como con MCP-3.

De forma similar, tal como se muestra en la Figura 16B, el pretratamiento con VB-201 produjo una reducción considerable de los niveles de fosforilación de ERK1/2 en células estimuladas con Fractalcina.

De forma similar, tal como se muestra en la Figura 16B, el pretratamiento con VB-201 produjo una reducción considerable de los niveles de fosforilación de ERK1/2 en células estimuladas con fractalkina.

Se obtuvieron resultados similares, que muestran la inhibición por VB-201 de la fosforilación de ERK1/2 y de la fosforilación de MEK1/2, tras estimulación con las quimiocinas MCP-1, MIP-1 α o RANTES, tal como se muestra en la Solicitud de Patente Internacional PCT/IL2011/000012 (publicada como WO 2011/083469).

Los anteriores resultados sugieren que la ruta MEK-ERK y la ruta Akt, pero no la ruta p38, son importantes en la señalización inducida por quimiocina en monocitos.

A fin de determinar adicionalmente la significancia de la fosforilación de ERK1/2 y de la fosforilación de MEK1/2 en la quimiotaxis de monocitos, se determinó el efecto del inhibidor de RAF GW5074, que reduce la fosforilación de MEK y ERK, sobre la quimiotaxis de monocitos en un ensayo de migración trans-pocillo usando una combinación de MCP-1 (50 ng/nL) y RANTES (70 ng/mL) como atractor. Los monocitos fueron pre-tratados con GW5074 5 μ M durante 30 minutos antes de sembrar en la cámara de migración.

Tal como se muestra en la Figura 17, el GW5074 redujo la migración en aproximadamente un 80 %. Este resultado indica que la quimiotaxis de monocitos es dependiente de la activación de la ruta RAF-MEK-ERK.

A continuación se comparó los efectos de VB-201, GW5074 y combinaciones de los mismos, sobre la fosforilación de ERK1/2. Se pretrataron monocitos durante 30 minutos con 5 μ g/mL de VB-201 y/o con GW5074 2,5 μ M, antes de seguir con estimulación durante 2 minutos con 20 ng/mL de MCP-1.

Tal como se muestra en la Figura 18, la combinación de VB-201 y GW5074 inhibió la fosforilación de ERK1/2 en un grado considerablemente mayor que el VB-201 solo o el GW5074 solo.

Los anteriores resultados indican que la inhibición por VB-201 de la ruta MEK-ERK en monocitos estimulados con quimiocina da como resultado una reducción de la quimiotaxis en monocitos.

EJEMPLO 7

Efecto de VB-201 sobre la quimiotaxis de monocitos *in vivo*

Para probar nuestra hipótesis de que el VB-201 puede actuar para modular la inflamación a través de la inhibición del tráfico de monocitos, se empleó VB-201 en el modelo de ratón ApoE bloqueado ("knockout") de aterosclerosis. Los ratones ApoE bloqueados presentan hipercolesterolemia grave y desarrollan lesiones ateroscleróticas espontáneas. Para evaluar el posible efecto del VB-201 sobre el desarrollo de aterosclerosis, se administró VB-201 o PBS mediante sonda gástrica diariamente a ratones ApoE jóvenes (de 9-11 semanas de edad) durante 8 semanas (n=11-12 por grupo), tras lo cual los animales fueron sacrificados y las lesiones examinadas.

Tal como se muestra en la Figura 19A, las bandas grasas se vieron reducidas marcadamente en los animales tratados con VB-201, y 1,5 mg/kg de VB-201 redujeron significativamente la formación de placa con respecto al control de PBS.

Este efecto fue claro a pesar del hecho de que la administración de VB-201 no modificó los parámetros metabólicos asociados a un riesgo elevado para el desarrollo de aterosclerosis, tal como el colesterol o los triglicéridos totales en plasma (datos no mostrados).

Para evaluar si la inhibición mediada por VB-201 del desarrollo de aterosclerosis se correlacionaba con la reducción de la acumulación de monocitos/macrófagos, se seccionaron especímenes de lesión de seno aórtico y se tiñeron para determinar el contenido de placa, así como la abundancia de macrófagos usando anticuerpos anti-CD68.

Tal como se muestra en la Figura 19B, la acumulación de macrófagos en la lesión de seno aórtico se redujo en los animales tratados con VB-201 en relación a los controles.

Estos resultados indican que el VB-201 inhibe la acumulación de macrófagos en placas de aterosclerosis *in vivo*, y que dicha inhibición de la acumulación de macrófagos se asocia a lesiones más pequeñas y más estables.

EJEMPLO 8

PGPC y VB-201 inhiben la quimiotaxis de monocitos humanos *in vivo*

Investigando potenciales funciones antiinflamatorias de fosfolípidos oxidativos, nos interesamos por evaluar los posibles efectos de los fosfolípidos nativos directamente en la quimiotaxis de monocitos. Se ha publicado previamente que los fosfolípidos oxidativos aumentan la adhesión de monocitos a células endoteliales (Berliner, J.A., et al., *Free Radic Biol Med.* 2008; 45: 119-123; Cole, A.L. et al., *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 1384-1390). Sin embargo, dichos efectos son resultado de la activación de las células endoteliales que viene seguida de una secreción de citocinas y un aumento de la expresión de moléculas de adhesión, mientras que los propios monocitos no han sido tratados o estudiados. Por lo tanto, nosotros decidimos evitar la presencia de otros tipos de células y llevamos a cabo ensayos de quimiotaxis de monocitos *in vitro* usando monocitos humanos aislados y quimioattractores recombinantes.

Para este propósito, se pre-incubaron monocitos de donantes sanos durante 30 minutos con disolvente (etanol al 0,005%/PBS), fosfatidilcolina (PC; 5 µg/mL), PAPC parcialmente oxidada (24h de oxidación; 40 µg/mL) o PGPC (5 µg/mL), y se dejaron migrar hacia MCP-1 humano recombinante (CCL2; ligando para CCR2) y RANTES (CCL5; ligando para CCR1, CCR3, CCR5, US28) como atractores (50 ng/mL de cada). De forma interesante, mientras que la PC y la PAPC parcialmente oxidada no redujeron el número de células migrantes, el tratamiento con PGPC pura, un producto oxidado de PAPC, atenuó de forma significativa la quimiotaxis de monocitos en ~50% (Figura 22A).

Este resultado inesperado no llevó a realizar un cribado de una biblioteca de lecinóxidos para descubrir compuestos adicionales que pueden inhibir la quimiotaxis de monocitos. De forma interesante, el cribado proporcionó el VB-201, un fosfolípido saturado sintético que está relacionado estructuralmente con la PGPC, que presentó una profunda inhibición de la quimiotaxis de monocitos (Figura 22A).

Hemos repetido ensayos, empleando MCP-1, RANTES o MIP-1α (CCL3; ligando para CCR1, CCR5) como quimioatractores y hemos observado que en comparación con el control de disolvente, el VB-201 reduce significativa y profundamente la migración de monocitos en aproximadamente un 80% para MCP-1, un 72% para RANTES y un 68% para MIP-1α (Figura 22B). Adicionalmente, evaluamos el efecto del VB-201 sobre la migración de monocitos cuando se usa medio de cultivo tomado de un cultivo de células endoteliales de cordón umbilical humano (HUVEC) como atractor. Dicho medio de cultivo contiene un 2% de suero, factores de crecimiento suplementarios y factores secretados por HUVEC (tal como IL-8, datos no mostrados). En nuestras manos, indujo una atracción de monocitos más robusta que ninguno de los quimioatractores individuales descritos anteriormente. En este experimento, el VB-201 redujo el número de células migrantes de un modo dependiente de la dosis, dando lugar a aproximadamente un 60% de inhibición a una dosis de 5 µg/mL. La inhibición de la migración no se observó para la PAPC completamente oxidada (oxidada durante 72h), para ninguna de las dosis tratadas (Figura 22C).

Para excluir la posibilidad de que la inhibición de la migración de monocitos por parte de VB-201 dé como resultado la muerte celular, los monocitos fueron tratados con dosis crecientes de VB-201 durante 16 horas, tras lo cual se determinó la viabilidad celular mediante un ensayo MTS. Tal como se muestra en la Figura 22D, el VB-201 no tuvo ningún efecto sobre la viabilidad de monocitos a dosis de 1-10 µg/mL. Adicionalmente a la evaluación de células CD14⁺ humanas primarias, también examinamos el efecto del VB-201 sobre la línea celular de monocitos humanos THP-1. Como se observó con los monocitos primarios, el VB-201 inhibe significativamente la migración *in vitro* de células THP-1 sin afectar a la viabilidad celular, descartando nuevamente cualquier efecto artificial del VB-201 sobre la quimiotaxis debido a toxicidad.

Para asegurar que el VB-201 no es una molécula oxidativa que puede inducir ROS y dañar células, se incubaron monocitos humanos durante una noche con PBS, VB-201 (10 µg/mL), PGPC (10 µg/mL) u OxPAPC (100 µg/mL; PAPC oxidada durante 24 h) y se evaluó la formación de ROS como se describe en la sección de métodos. Como era de esperar, la mezcla de control positivo de OxPAPC elevó significativamente las ROS en monocitos humanos con respecto a las células tratadas con PBS. Sin embargo, VB-201 y PGPC no tuvieron efecto sobre la formación de ROS en monocitos primarios (Figuras 23A y 23B).

En conjunto, estos descubrimientos indican que algunas moléculas de fosfolípido, tal como PGPC y VB-201, pueden inhibir la quimiotaxis de monocitos *in vitro*. De forma destacable, este efecto es específico del compuesto y no es resultado de un fenómeno general relacionado con fosfolípidos (un efecto de clase).

EJEMPLO 9

La fagocitosis de monocitos y las propiedades adhesivas no se ven afectadas por VB-201

Dada la inhibición de la quimiotaxis de monocitos por parte del VB-201, nos interesaba evaluar si el VB-201 afecta a otras funciones monocíticas. Con este fin, se llevó a cabo un ensayo de fagocitosis con sangre entera de donantes sanos, y se evaluó la capacidad de subconjuntos de leucocitos para fagocitar partículas de *E. coli* marcadas con PE en presencia o ausencia de VB-201. Como control negativo, usamos sangre sin partículas bacterianas, mientras que el control positivo incluyó sangre y partículas bacterianas marcadas incubadas a 37°C. A continuación, se tificaron las células con anticuerpos CD14 y CD66b para diferenciar entre monocitos y granulocitos y se analizaron mediante FACS. De forma interesante, las dosis de VB-201 de 5 o 10 µg/mL que eran efectivas en la inhibición de la migración de monocitos no tuvieron ningún efecto significativo sobre la capacidad de fagocitosis de los monocitos (Figura 24A). Adicionalmente, no se observó ningún efecto del VB-201 sobre la fagocitosis de granulocitos (Figura 24B).

A continuación, examinamos si el tratamiento con VB-201 o con PAPC oxidada de monocitos afecta a su interacción con las células endoteliales. Se llevaron células HUVEC a placas de 96 pocillos y se trataron con TNFα para inducir la expresión de moléculas de adhesión. Los monocitos fueron pre-marcados fluorescentemente con calceína AM y tratados con disolvente, dosis crecientes de VB-201 o PAPC oxidada, y posteriormente se dejaron adherir a las células endoteliales (que no fueron tratadas con VB-201 o con PAPC oxidada). Tras lavados intensivos, se cuantificaron los monocitos adherentes mediante fluorescencia. Como era de esperar, el tratamiento con TNFα aumentó la adhesión de monocitos tratados con disolvente en un factor de ~5 respecto al control sin TNFα. Sin embargo, el tratamiento de monocitos con 1-10 µg/mL de VB-201 no tuvo efecto sobre su adhesión a HUVEC en comparación con el control de

disolvente (Figura 24C). Estos experimentos sugieren que el efecto del VB-201 es específico de proceso, regulando la quimiotaxis de monocitos, pero no sus propiedades de fagocitosis o adhesivas.

EJEMPLO 10

Especificidad celular del VB-201

5 Puesto que los receptores de quimiocinas se expresan sobre diferentes células inmunes, nos preguntamos si el efecto del VB-201 es de naturaleza “fosfolípídica” amplia, o si quizás es específico de célula. Para este fin, se aislaron células T CD4⁺ de voluntarios sanos y después de 30 minutos de pre-incubación con VB-201, las empleamos en ensayos de quimiotaxis. Para una dosis de 5 µg/mL de VB-201, que inhibe drásticamente la quimiotaxis de monocitos, fuimos incapaces de observar ninguna inhibición de la quimiotaxis de células CD4⁺ en múltiples donantes evaluados (Figura 25A). De forma similar, el VB-201 no tuvo efecto sobre la quimiotaxis de neutrófilos humanos hacia LPS o medio RPMI-1640 suplementado con FBS al 10%/MCP-3 (Figura online, Figura 25B). El efecto del VB-201 sobre la movilidad celular parece ser específico de célula.

Se determinó el efecto del VB-201 sobre la señalización celular en monocitos y células T mediante un ensayo Western Blot para ERK1/2 fosforilada, usando monocitos y células T aisladas del mismo donante.

15 Tal como se muestra en la Figura 25C, el VB-201 inhibió la fosforilación de ERK1/2 en monocitos estimulados, pero no en células T estimuladas.

Adicionalmente, el VB-201 no tuvo efecto sobre la migración celular en un ensayo de curación de “arañazo” llevado a cabo usando fibroblastos de ratón NIH-3T3 o células de cáncer de mama humano MCF-7 (datos no mostrados).

20 Estos resultados indican que la inhibición de la quimiotaxis por fosfolípidos oxidados, y el efecto asociado sobre la señalización celular, son específicos de célula, estando limitados a la quimiotaxis de monocitos.

EJEMPLO 11 (solo para referencia)

El VB-201 inhibe la migración de monocitos *in vivo* en el modelo de peritonitis de ratón

25 Par evaluar si el VB-201 puede inhibir la migración de monocitos *in vivo*, aprovechamos el modelo de ratón bien caracterizado de peritonitis inducida por tioglicolato. En este modelo, la inyección de tioglicolato a la cavidad peritoneal induce una respuesta inflamatoria “estéril” que recluta monocitos periféricos al peritoneo, en donde se diferencian en macrófagos (Li, Y.M., et al., *J. Immunol. Methods*. 1997; 201: 183-188). Se alimentó a los ratones con dosis diferentes de VB-201 durante 5 días antes de la inyección de tioglicolato. Tras ser sacrificados, se determinó el número y la identidad de las células que se acumulan en el peritoneo mediante FACS, y se tomaron muestras de plasma para cuantificación mediante Espectrometría de Masas en Tándem con Cromatografía de Líquidos. Tres días después de la inyección de tioglicolato, el 95% de las células del peritoneo eran macrófagos (células F4/80 positivas, GR-1 negativas) (Figura 26B).

35 Comparando el número de macrófagos acumulados en los animales de control con los grupos tratados con VB-201, nos dimos cuenta de que la dosis más baja de 0,04 mg/kg/día de VB-201 no presentaba efecto inhibitorio sobre la acumulación de macrófagos, tal como esperábamos para una dosis tan baja. Sin embargo, una dosis de 0,4 mg/kg, que dio lugar a 0,8±0,3 µmol/L de VB-201 en el plasma de los ratones, dio como resultado un ~25% de inhibición. De forma destacable, cuando se administró a los ratones con 4 mg/kg de VB-201, dosificación que dio lugar a un nivel en plasma de 8,5±1,5 µmol/L de VB-201 activo en monocitos humanos, observamos una reducción profunda significativa (>60%) en el número de macrófagos peritoneales respecto a los animales tratados con PBS (Figura 26A).

40 Estos datos demuestran un efecto *in vivo* dependiente de la dosis de VB-201 sobre la migración de monocitos en un modelo de peritonitis de ratón. Adicionalmente, la dosis efectiva de VB-201 en el plasma de los ratones se correlacionó con la dosis de VB-201 que inhibió la quimiotaxis de monocitos humanos *in vitro*.

EJEMPLO 12

El VB-201 inhibe la fosforilación de AKT y ERK1/2

45 El VB-201 inhibe la activación intracelular inducida por GTP-γ-S de las rutas de AKT y ERK en la línea celular monocítica THP-1. Las células THP-1 fueron incubadas durante 16 h en medio RPMI-1640 suplementado con FBS al 0,5% y Pen/Estrep/Glutamina al 1% para reducir las lecturas de señalización basales. Posteriormente, las células fueron divididas en tubos de 1,5 mL (1,5*10⁵ células/tubo) y fueron pre-tratadas con un control de disolvente o con VB-201 8,5 µM durante 20 minutos. La estimulación con GTP-γ-s 100 µM, un activador de proteínas G, se llevó a cabo durante 2, 5 o 15 minutos. Las células fueron recolectadas y analizadas mediante SDS-PAGE. Tal como se muestra en la Figura 27, el análisis Western blot muestra una reducción en los niveles de fosfo-ERK1/2 y fosfo-AKT (Ser473) en las células tratadas con VB-201 respecto al control de disolvente. Los niveles totales de ERK1/2 sirven como control de carga.

Este ejemplo demuestra la capacidad del VB-201 para inhibir la fosforilación de AKT y ERK1/2, incluso si la activación es inducida usando un agonista que funciona intracelularmente (no vía ligando de un receptor superficial).

EJEMPLO 13

El VB-201 inhibe la activación inducida por EGF de ERK

5 El VB-201 inhibe la activación inducida por EGF de factor de crecimiento epidérmico de ERK en THP-1, pero no en células HEK293. Se creció líneas celulares THP1 o HEK293 en medio suplementado con un 0,5% de FBS y 1% de Pen/Estrep/Glutamina. Las células fueron tratadas con disolvente o con VB-201 (8,5 μ M) durante 20 minutos, seguido de estimulación de EGF (200 ng/mL) durante diferentes periodos de tiempo. Las células se lavaron dos veces y se recolectaron mediante tampón de lisis y se analizaron mediante SDS-PAGE. Tal como se muestra en la Figura 28, el análisis Western blot muestra inhibición de la fosforilación de ERK1/2 en la línea celular monocítica THP-1 pero no en las células HEK293. Los niveles de Alfa Tubulina sirven como control de carga.

10 Este ejemplo demuestra la especificidad del VB-201 – el mismo ligando usado para estimulación de diferentes tipos de células. El VB-201 inhibe la señalización aguas debajo en monocitos, pero no en células renales embrionarias. Esto demuestra que la identidad del ligando/medio de activación no afecta a la capacidad del VB-201 para inhibir la activación/fosforilación de ERK.

EJEMPLO 14

El VB-201 inhibe la fosforilación de ERK1/2

20 VB-201 disminuye la fosforilación de ERK1/2 en monocitos humanos que fueron pre-estimulados con MCP-1 durante una noche. Las células CD14 fueron aisladas de un donante sano e incubadas durante 16 h en medio RPMI-1640 suplementado con un 10% de FBS, 1% de Pen/Estrep/Glutamina y 10 ng/mL de MCP-1. Posteriormente, las células fueron tratadas con disolvente, o con VB-201 (8,5 μ M) durante diferentes tiempos (2, 5 o 15 minutos). Se usaron células sin tratar como referencia para la activación de MCP-1. Tras el tratamiento, las células fueron lavadas dos veces, cosechadas con tampón de lisis y analizadas mediante SDS-PAGE. Tal como se muestra en la Figura 29, el análisis de Western blot muestra una reducción de la fosforilación de ERK1/2 comenzando a los 5 minutos de la adición de VB-201. Los niveles de alfa tubulina sirven como control de carga.

25 Este ejemplo demuestra la capacidad del VB-201 para reducir la fosforilación de ERK1/2 en monocitos pre-activados. Mecánicamente – prueba que el efecto del VB-201 no es a través de la interferencia de la interacción/activación ligando-receptor.

EJEMPLO 15

El VB-201 inhibe la activación inducida por CRP de AKT y ERK, e inhibe la quimiotaxis inducida por proteína reactiva C

30 El VB-201 inhibe la activación inducida por proteína reactiva C (CRP) de las rutas de AKT y ERK en la línea celular monocítica THP-1. Se incubaron células THP-1 durante 16 h en medio RPMI-1640 suplementado con un 0,5% de FBS y un 1% de Pen/Estrep/Glutamina para reducir las lecturas de señalización basales. Posteriormente, las células fueron divididas en tubos de 1,5 mL ($1,5 \times 10^5$ células/tubo) y se pre-trataron con un control de disolvente o con VB-201 8,5 μ M durante 20 minutos. Se llevó a cabo estimulación con 30 μ g/mL de CRP, activador de receptores de CD32 y CD64, durante 2, 5 o 15 minutos. Las células fueron recolectadas y analizadas mediante SDS-PAGE. Tal como se muestra en la Figura 30A, el análisis Western blot muestra una reducción en los niveles de fosfo-ERK1/2 y fosfo-AKT(Ser473) en células tratadas con VB-201 respecto al control de disolvente. Los niveles totales de ERK1/2 sirven como control de carga.

40 Este ejemplo demuestra la capacidad del VB-201 para inhibir la fosforilación de AKT y ERK1/2, inducida mediante CRP, un marcador pro-inflamatorio y un quimioattractor de monocitos. Puede soportar el efecto anti-inflamatorio de VB-201 incluso sin reducir los niveles en sangre de CRP.

45 Se pre-trataron monocitos CD14+ aislados de sangre de donantes sanos con un control de disolvente o con VB-201 8,5 μ M durante 30 minutos. El ensayo de quimiotaxis se llevó a cabo usando 50 μ g/mL de CRP (MP Biomedicals) durante 3,5 horas. En la Figura 30B, los datos representan 3 donantes diferentes. El efecto de VB-201 es estadísticamente significativo ($p < 0,01$). Esto demuestra la capacidad del VB-201 para inhibir la quimiotaxis inducida por CRP, un marcador pro-inflamatorio y un quimioattractor de monocitos. Puede soportar el efecto anti-inflamatorio de vb-201 incluso sin reducir los niveles en sangre de CRP.

EJEMPLO 16

El VB-201 se une a TLR2 expresado en la superficie celular

50 Se incubaron monocitos humanos durante 15 minutos con anticuerpo de bloqueo de TLR2 anti-humano. Para el control, se usó anticuerpo de isotipo igualado en las concentraciones indicadas antes de añadir BO-VB201 durante

otros 15 minutos adicionales. Se usó estreptavidina-APC (1:200) para detectar la unión. Los resultados se muestran en las Figuras 31A y 31B.

EJEMPLO 17

Combinación de VB-201 y otros inhibidores

5 Tal como se muestra en la Figura 32, la wortmannina (1 $\mu\text{mol/L}$), la rapamicina (1,1 $\mu\text{mol/L}$) y el inhibidor de RAF GW5074 (1 $\mu\text{mol/L}$) disminuyen la quimiotaxis de células THP-1 *in vitro*, pero su efecto (barras negras) se ve potenciado adicionalmente por VB-201 (8,5 μM ; barras grises). Los datos son la media \pm SD de 4 experimentos llevados a cabo por triplicado, normalizados a las células no tratadas. **, $p < 0,001$.

10 Estos datos demuestran que el efecto del VB-201 en la inhibición de la quimiotaxis puede lograrse a través de otros inhibidores también, pero con VB-201 el efecto es mayor (lo más probablemente, ya que el VB-201 inhibe tanto PI3K-AKT y MEK-ERK, no solo una de las rutas). Desafortunadamente, no podemos decir que esto sea un efecto sinérgico.

EJEMPLO 18

Propiedades de unión de VB-201 y VB-207 en un modelo *in silico*

15 Las propiedades de unión de VB-201 y VB-207 se determinaron usando modelización *in silico*. Las potenciales interacciones entre VB-201 y VB-207 y las proteínas TLR1-TLR2 (humanos), TLR4 (humano), CD14 (humano) y PI3K- γ (humano) fueron analizados mediante experimentos de acoplamiento *in silico*.

La modelización se llevó a cabo usando el método de acoplamiento CDocker basado en minimización de simulación CHARMM ("Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics).

20 Se observaron interacciones de acoplamiento (no mostradas) entre VB-201 y VB-207 y las dianas potenciales TLR1-TLR2, TLR4, CD14 y PI3K- γ . Sin embargo, las interacciones de acoplamiento entre VB-207 y las dianas no mostraron ninguna consistencia en la orientación de acoplamiento, lo que indica que el VB-207 no se une específicamente a dichas dianas. Por el contrario, todas las afinidades de unión fueron más fuertes para VB-201 que para VB-207, y las interacciones de acoplamiento entre el VB-207 y las dianas mostraron algo de consistencia en la orientación de acoplamiento, lo que indica que el VB-201 tiene más probabilidad de unirse específicamente a una o más de las dianas.

Los anteriores resultados son consistentes con los descubrimientos mencionados anteriormente de que el VB-201, pero no el VB-207, se unen a CD14 y TLR2.

Sin embargo, los resultados del ensayo descritos previamente en la presente memoria no soportan la unión de TLR4 por parte de VB-201.

30 Adicionalmente, se observó que el VB-201 tiene poca probabilidad de ser capaz de atravesar una membrana celular, en base al análisis de su estructura molecular.

Esto es consistente con el descubrimiento mencionado anteriormente de que el VB-201 se une solo a receptores de tipo toll presentes en la superficie de la membrana plasmática.

EJEMPLO 19

Selectividad de la unión de VB-201

35 A fin de determinar la selectividad y la significancia de la unión de VB-201 a TLR2 y CD14, se evaluó el efecto del VB-201 en la actividad de una variedad de proteínas adicionales, particularmente proteínas que tienen actividad pro-inflamatoria, usando procedimientos estándar.

40 No se observó inhibición de COX-1, COX-2, HMG-CoA reductasa o 12-LO (12-lipoxigenasa) para VB-201 a concentraciones de hasta 10 μM (datos no mostrados).

No se observó inhibición de receptor de TNF α para VB-201 a concentraciones de hasta 17 μM (datos no mostrados).

No se observó inhibición de Lp-PLA2 para VB-201 a concentraciones de hasta 40 μM (datos no mostrados).

No se detectó inhibición por parte de VB-201 de quinasas, fosfatasas, canales/transportadores de iones.

45 Adicionalmente, no se observó ningún efecto agonístico o antagonístico de VB-201 sobre receptores de proteína acoplada a G (GPCR).

Considerados en conjunto con los resultados anteriores que muestran que el VB-201 no afecta a la actividad de una variedad de receptores de tipo toll (diferentes a TLR2 y TLR4), estos resultados indican que el VB-201 inhibe

selectivamente las rutas asociadas a CD14 y TLR2, y confirman además que los efectos anti-inflamatorios del VB-201 están mediados por CD14 y TLR2.

La citación o identificación de cualquiera referencia en esta especificación no debería considerarse como una admisión de que dicha referencia está disponible como técnica anterior a la presente invención. En relación al uso de títulos de sección, no deberían considerarse necesariamente como limitativos.

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto, que es 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina, para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio, en donde dicha enfermedad o trastorno inflamatorio es esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).
- 5 2. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en donde dicho compuesto es (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-sn-glicerol-3-fosfocolina.
3. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicho compuesto presenta al menos dos actividades seleccionadas del grupo que consiste en:
- a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14;
- 10 b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2; y
- c) inhibir la quimiotaxis de monocitos.
4. El compuesto para uso según la reivindicación 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14; e inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2.
- 15 5. El compuesto para uso según la reivindicación 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14; e inhibir la quimiotaxis de monocitos.
6. El compuesto para uso según la reivindicación 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2; e inhibir la quimiotaxis de monocitos.
- 20 7. El compuesto para uso según la reivindicación 3, en donde dichas actividades son: inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14; inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2; e inhibir la quimiotaxis de monocitos.
8. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho compuesto es para administrar a un humano.
- 25 9. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicho compuesto inhibe la actividad de TLR4.
10. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina está en la forma de una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable.
- 30 11. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicho compuesto es al menos un agente capaz de presentar al menos dos actividades seleccionadas entre (a) inhibir la actividad de CD14 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de CD14, (b) inhibir la actividad de TLR2 y/o una ruta de señalización asociada a la actividad de TLR2, y (c) inhibir la quimiotaxis de monocitos, y en donde dicho agente se selecciona entre 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina y las sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.
- 35 12. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicho compuesto es para administración oral.

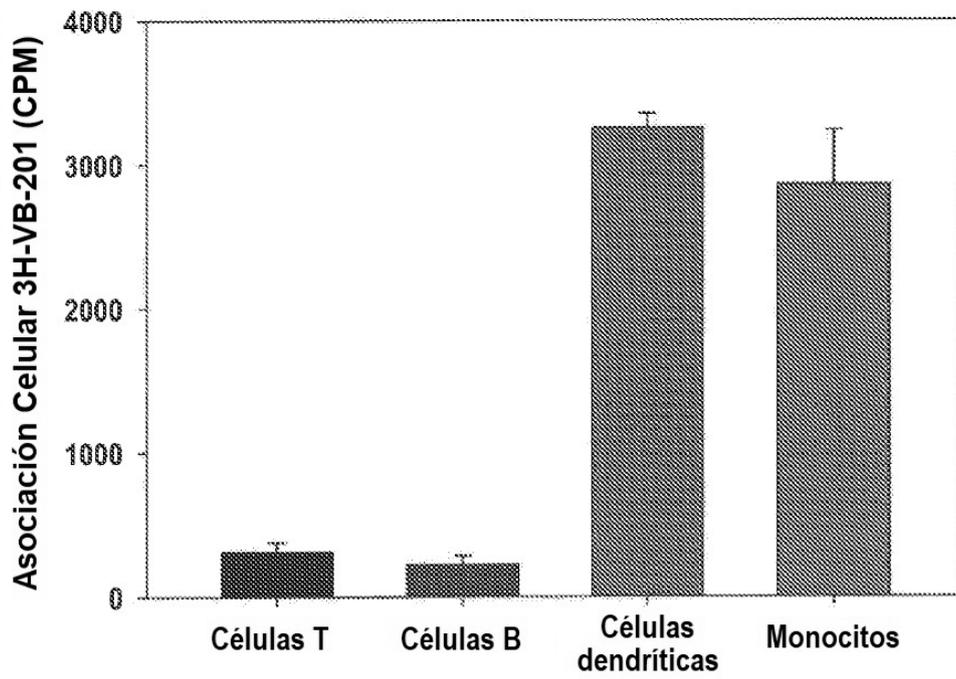


FIG. 1A

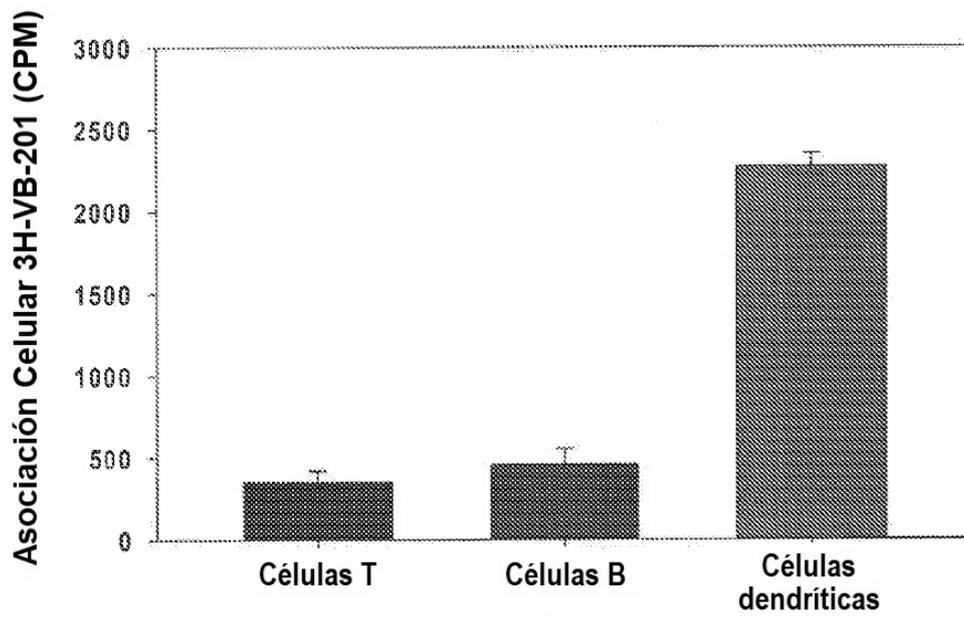


FIG. 1B

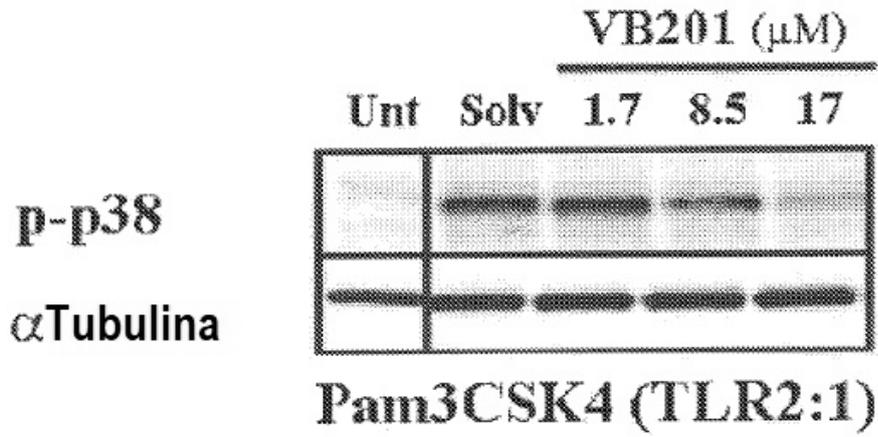


FIG. 2A

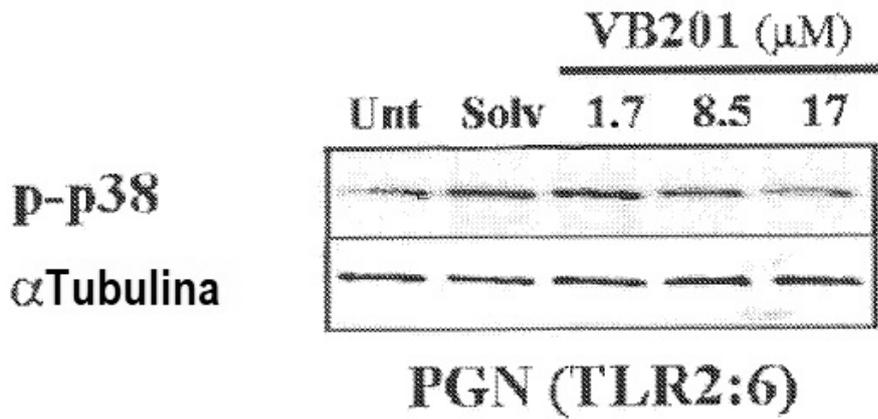


FIG. 2B

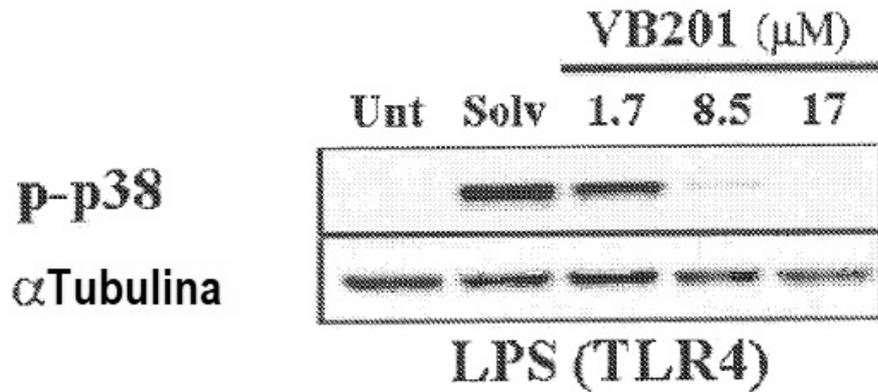


FIG. 2C

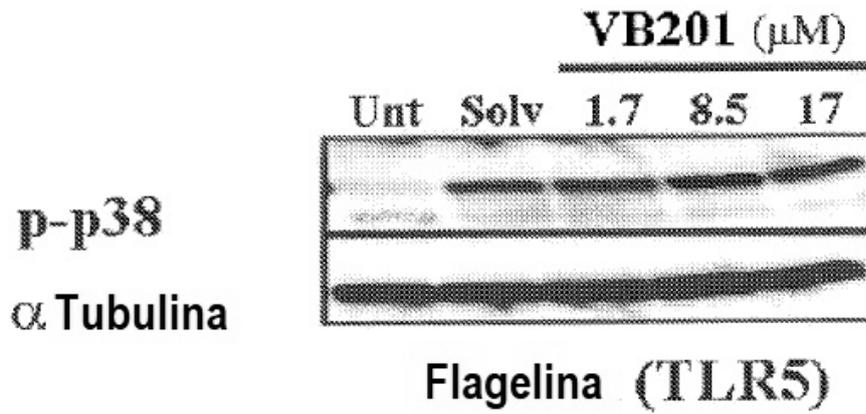


FIG. 2D

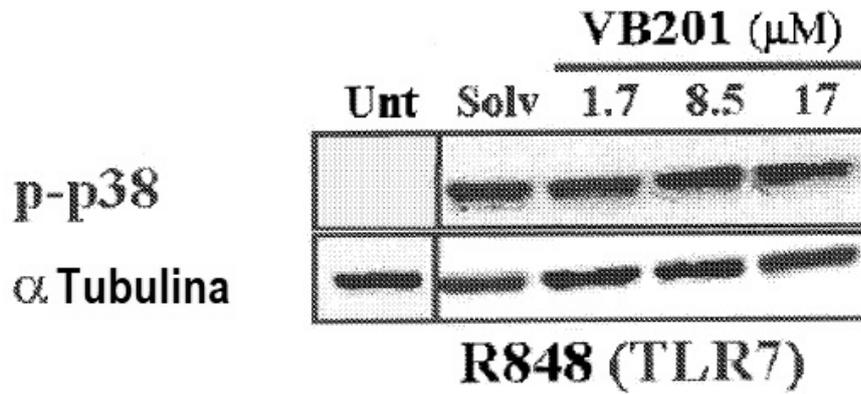


FIG. 2E

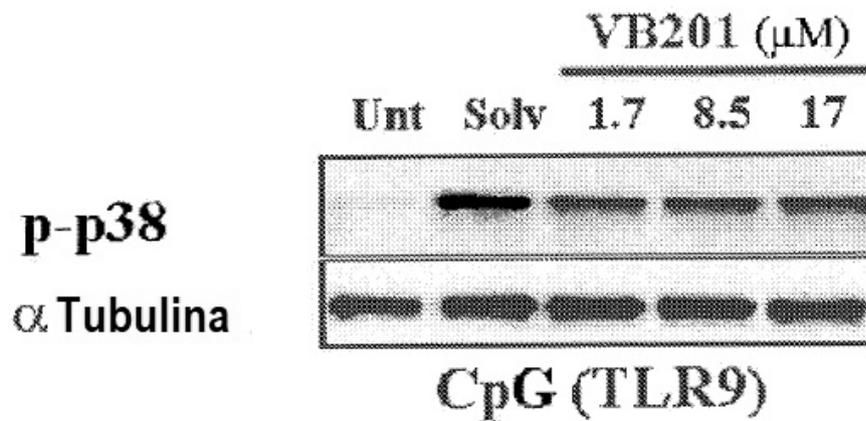


FIG. 2F

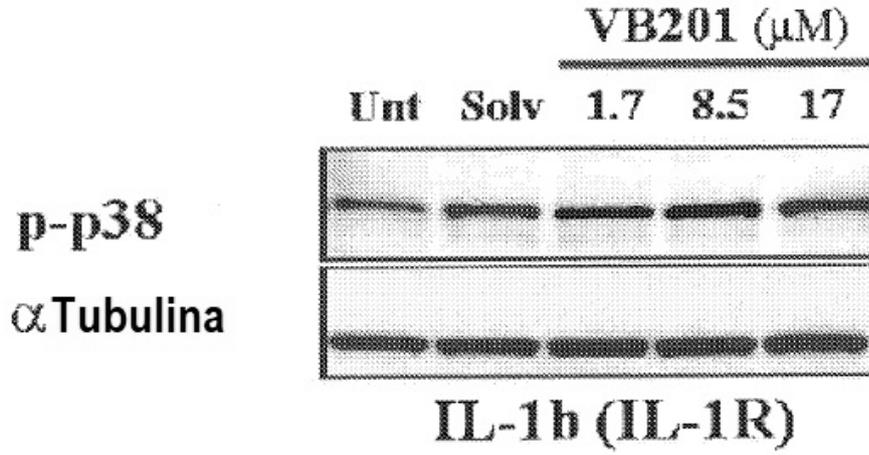


FIG. 2G

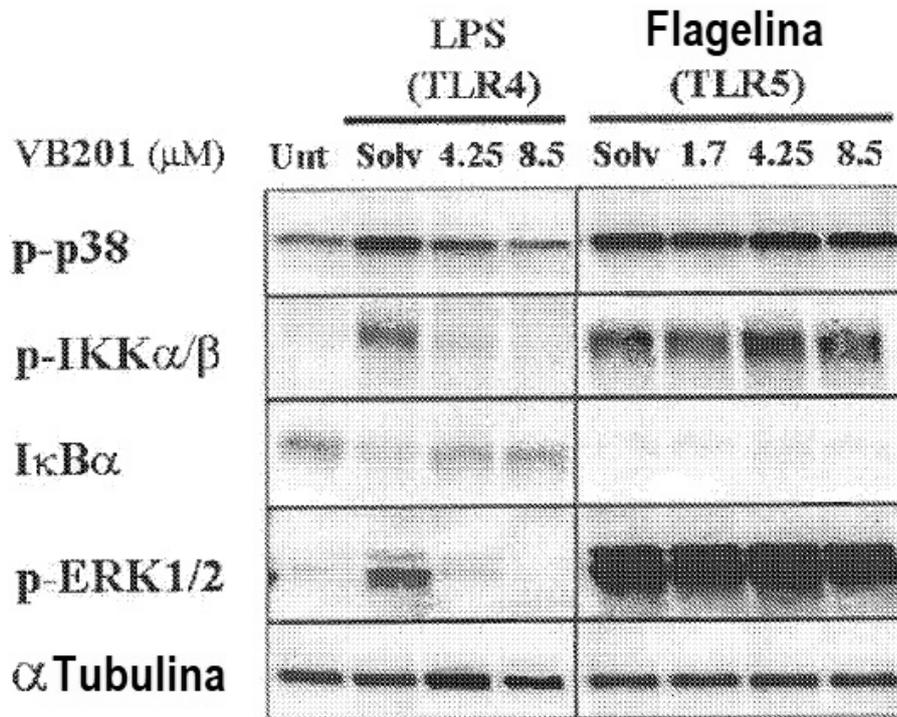


FIG. 3

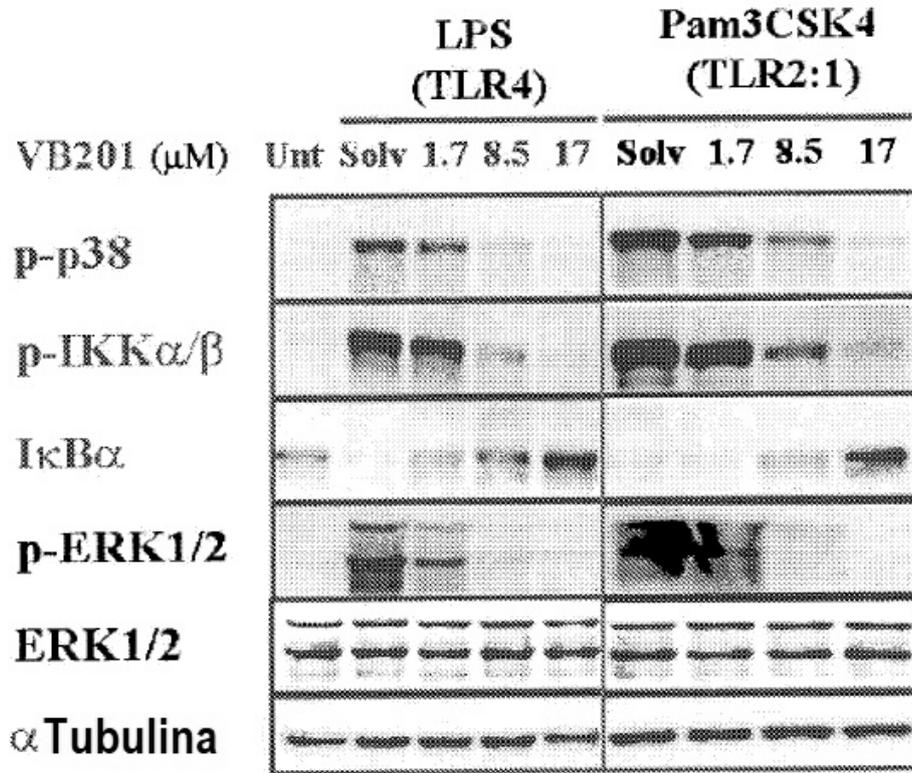


FIG. 4

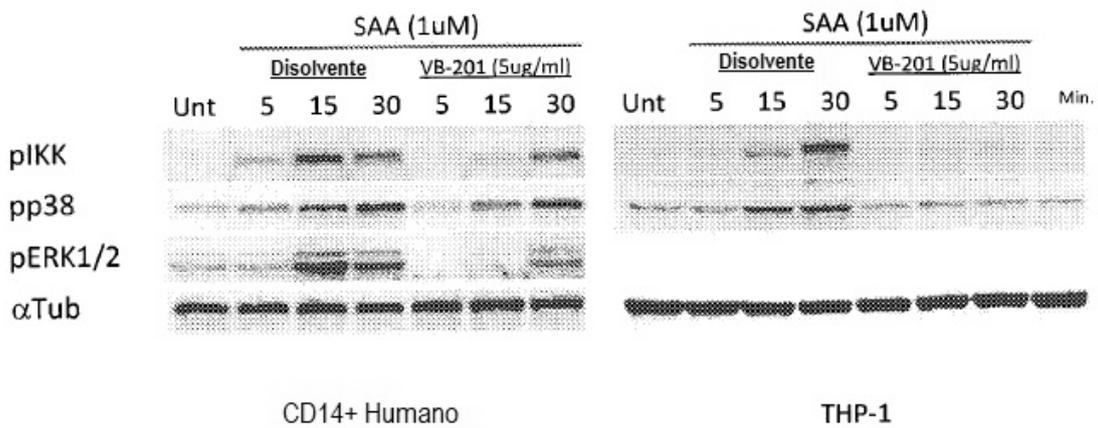


FIG. 5

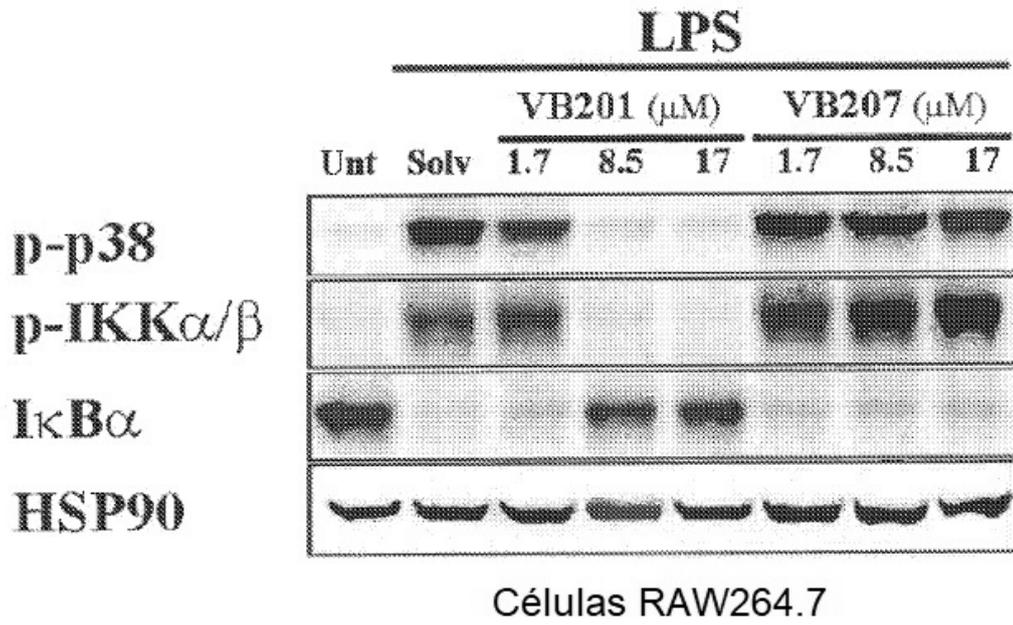


FIG. 6A

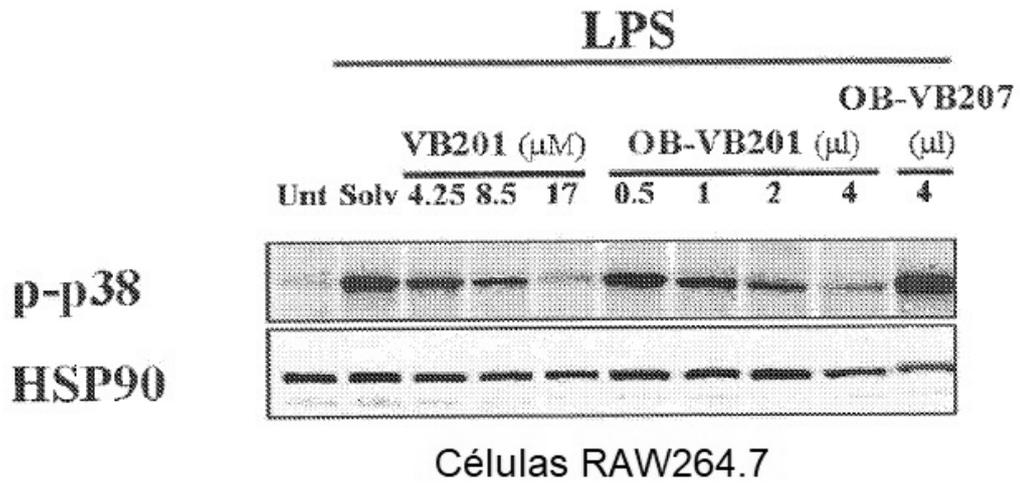


FIG. 6B

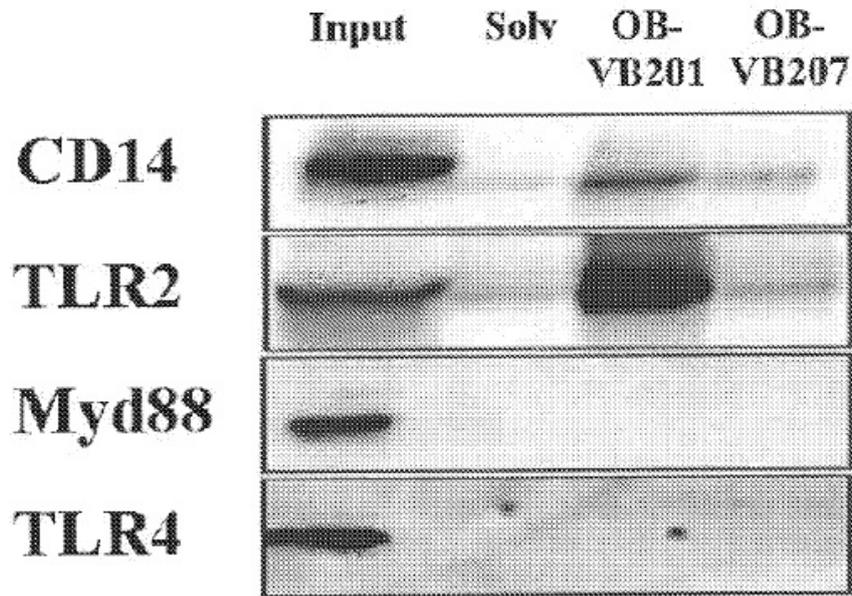


FIG. 7A

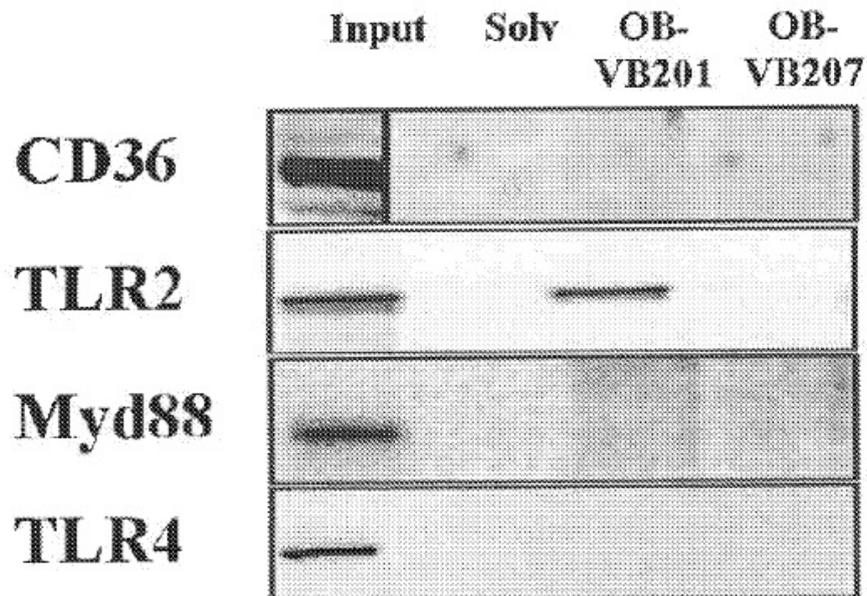


FIG. 7B

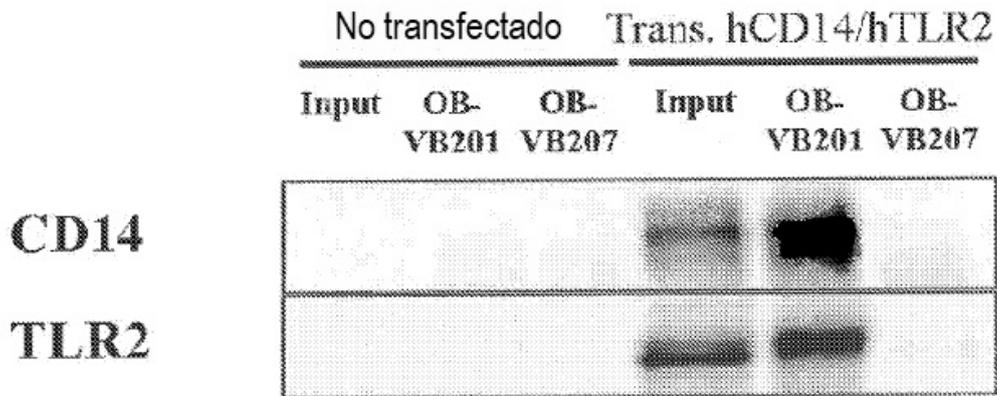


FIG. 8

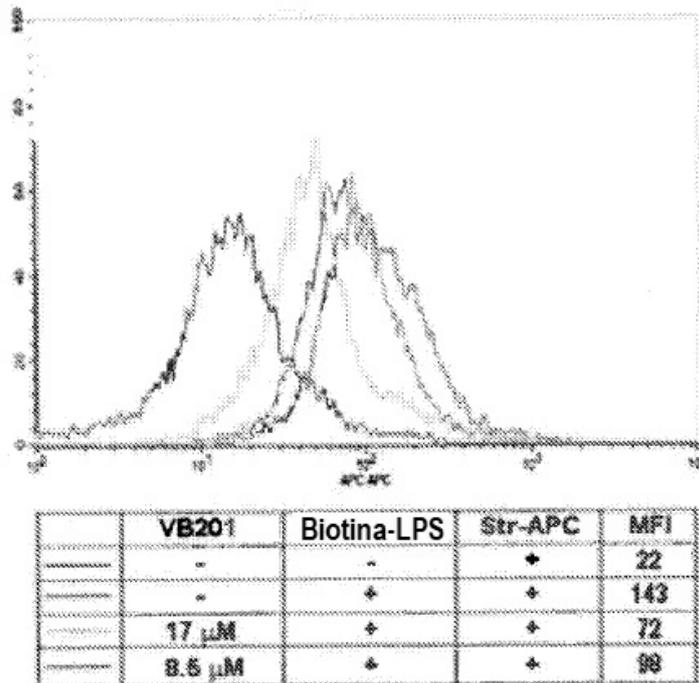


FIG. 9

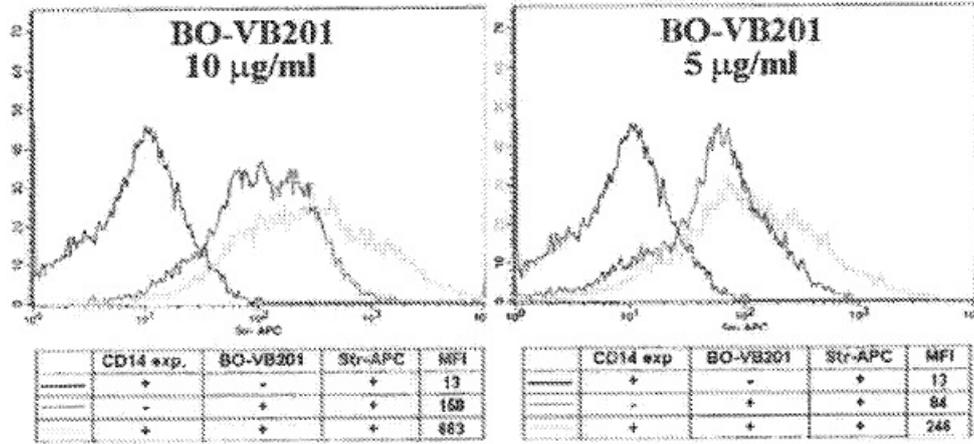


FIG. 10A

FIG. 10B

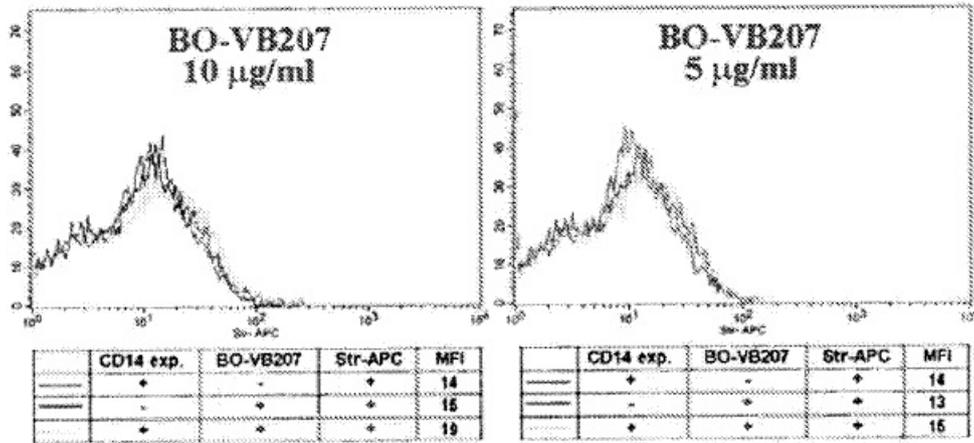


FIG. 10C

FIG. 10D

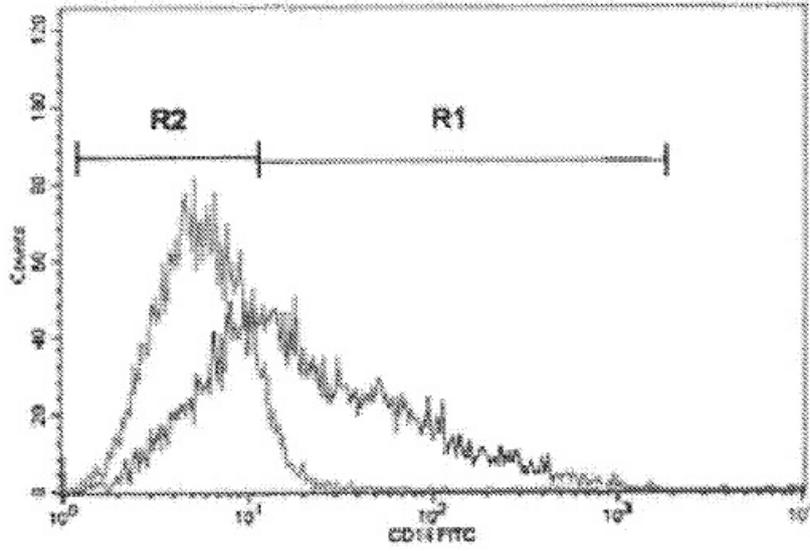
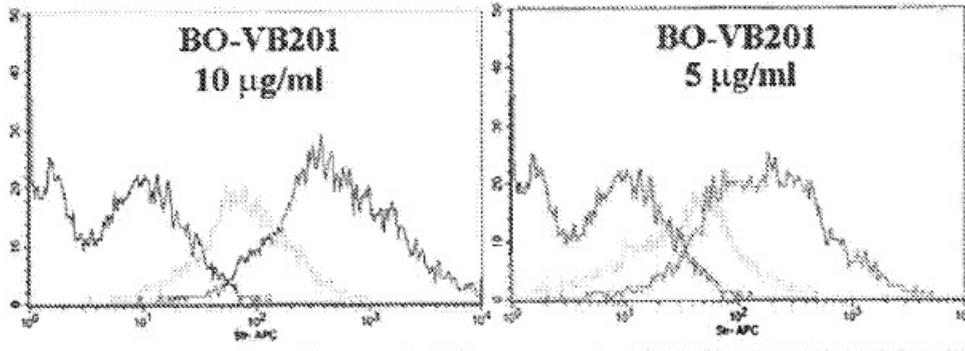


FIG. 11A



	CD14 exp.	BO-VB201	Str-APC	MFI
—	alto	-	+	13
---	alto	+	+	333
.....	bajo	+	+	112

FIG. 11B

	CD14 exp.	BO-VB201	Str-APC	MFI
—	alto	-	+	13
---	alto	+	+	328
.....	bajo	+	+	54

FIG. 11C

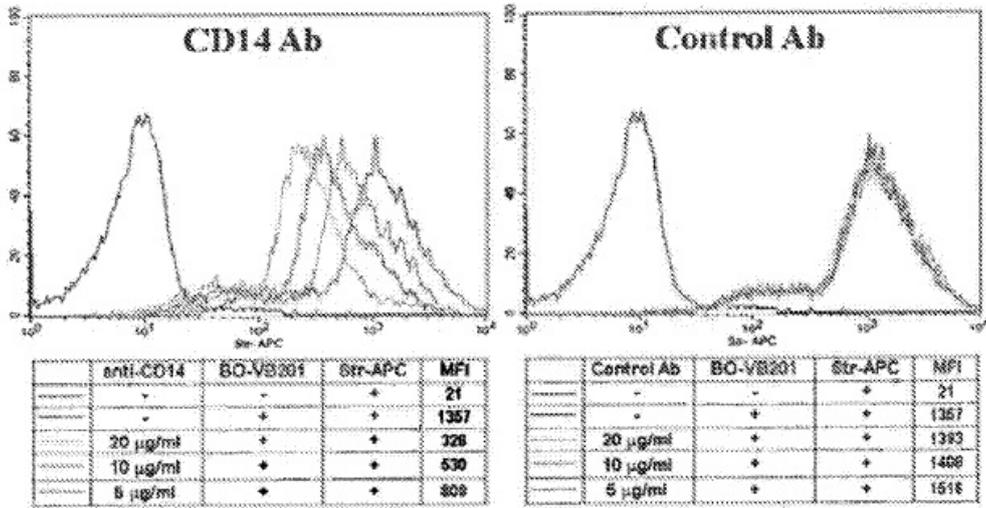


FIG. 12A

FIG. 12B

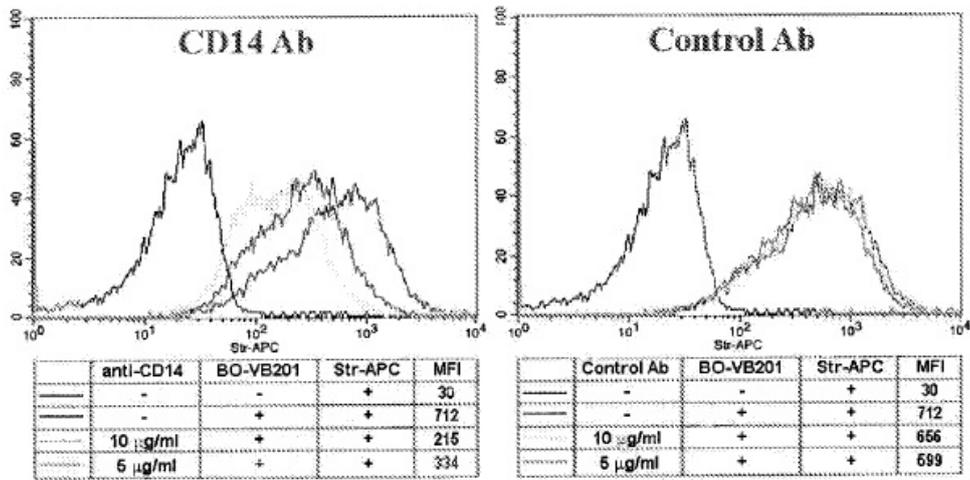


FIG. 12C

FIG. 12D

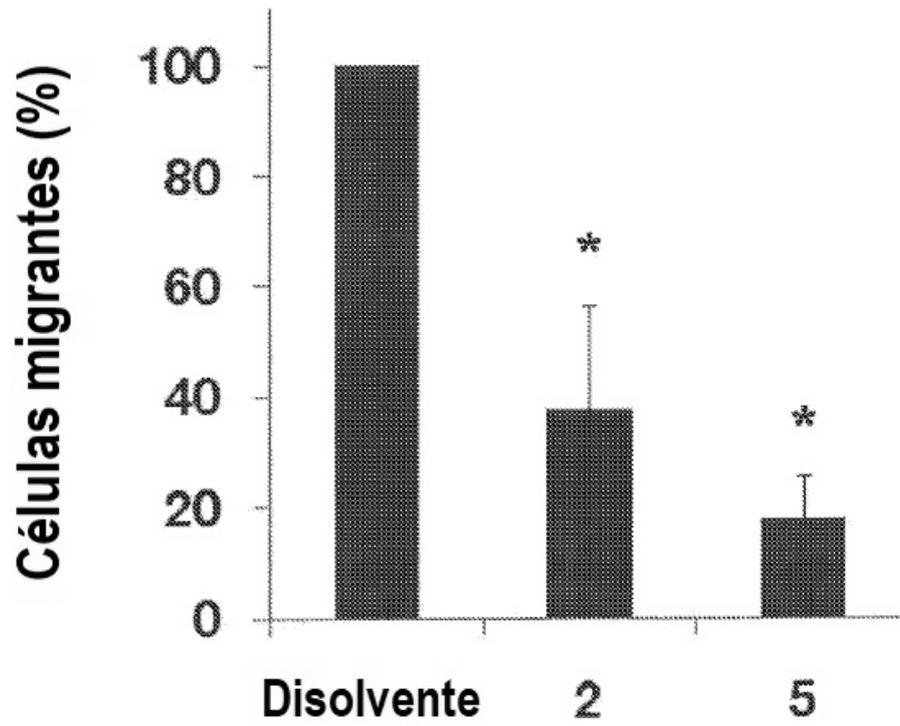
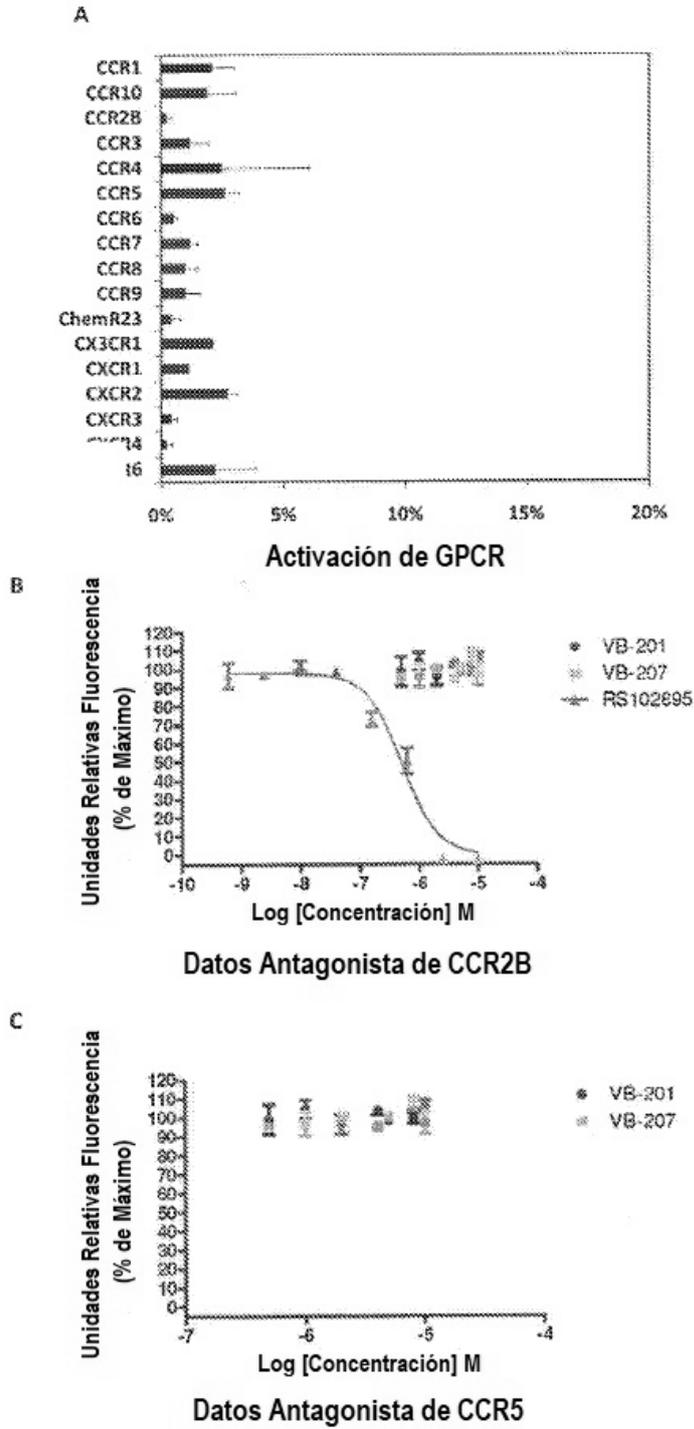


FIG. 13

FIG. 14



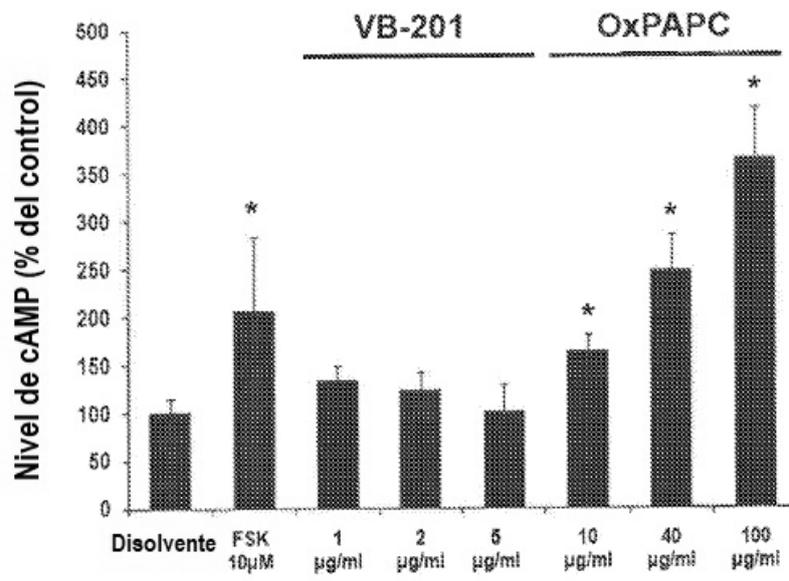


FIG. 15

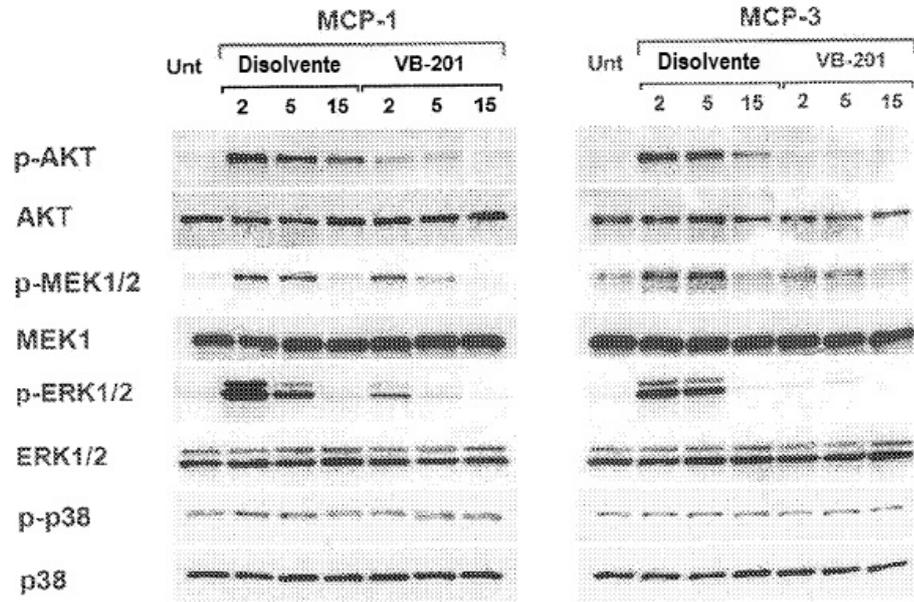


FIG. 16A

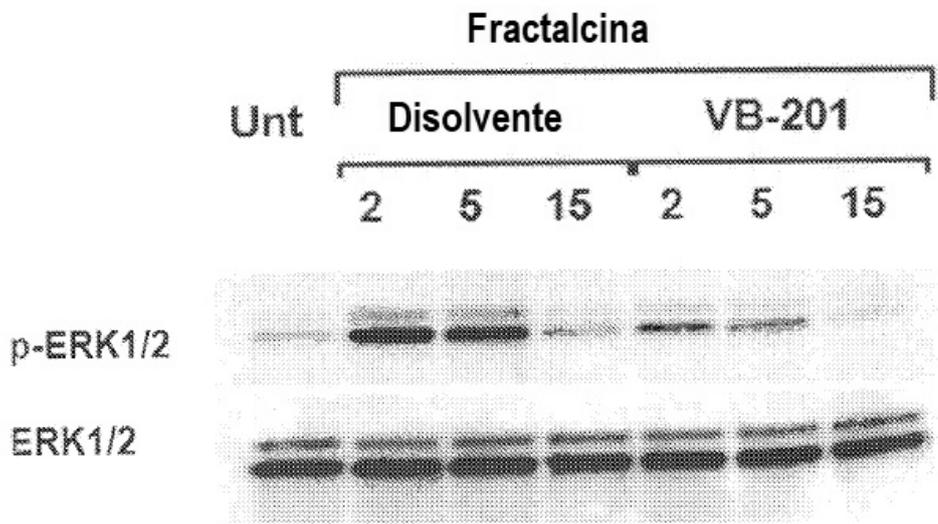


FIG. 16B

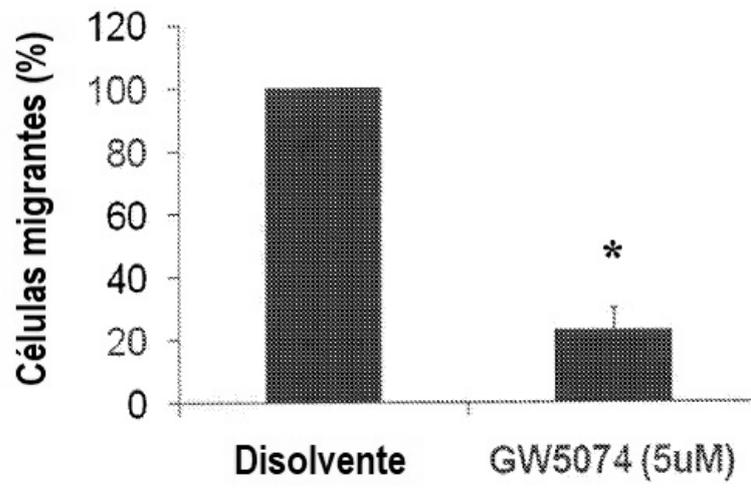


FIG. 17

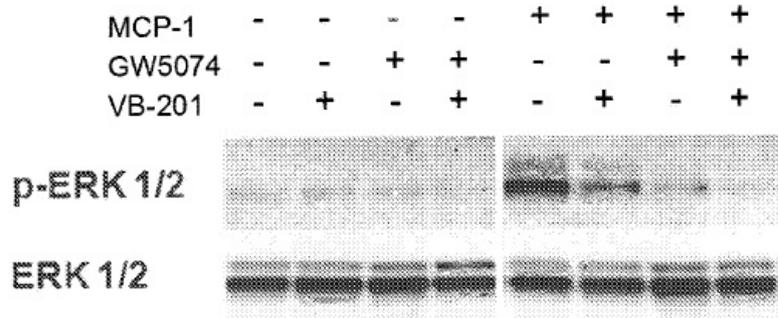


FIG. 18

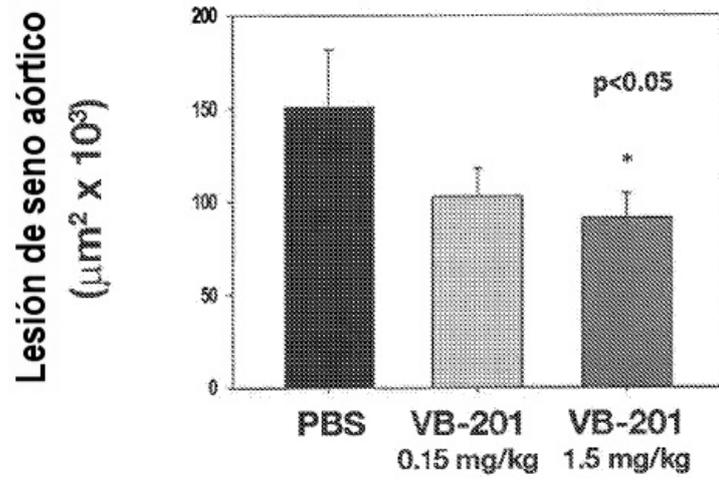


FIG. 19A

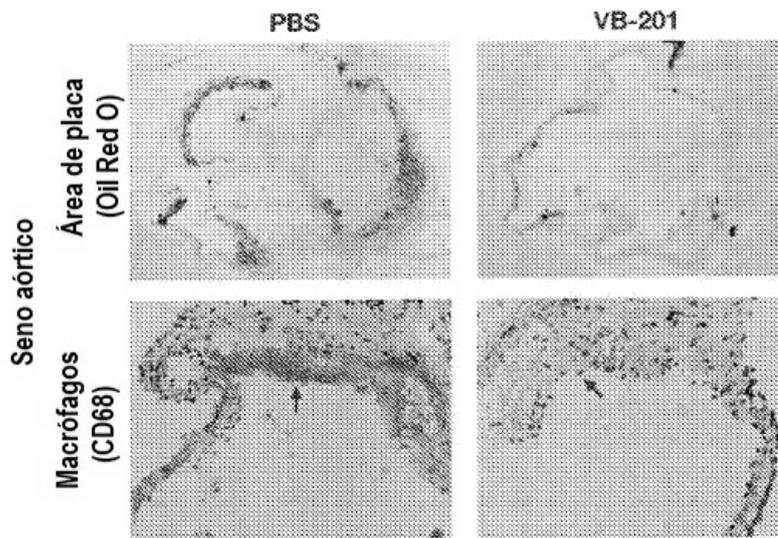


FIG. 19B

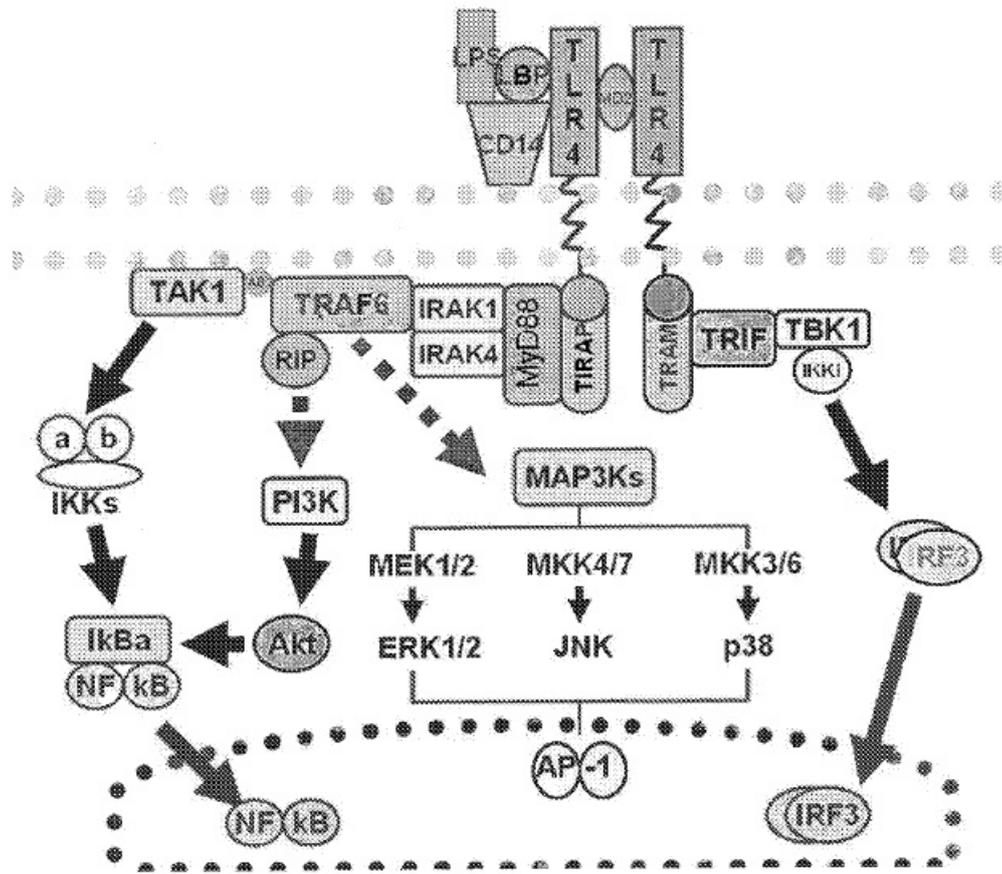


FIG. 20

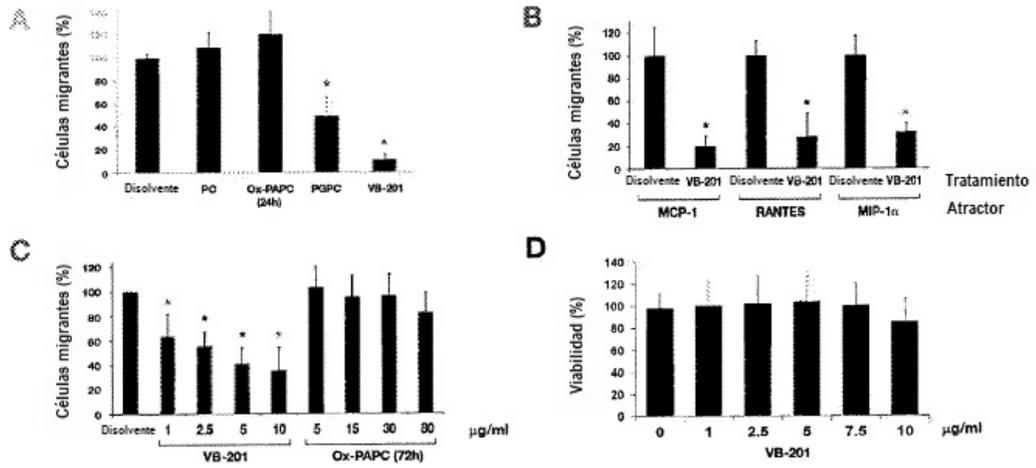


FIG. 22

FIG. 23A

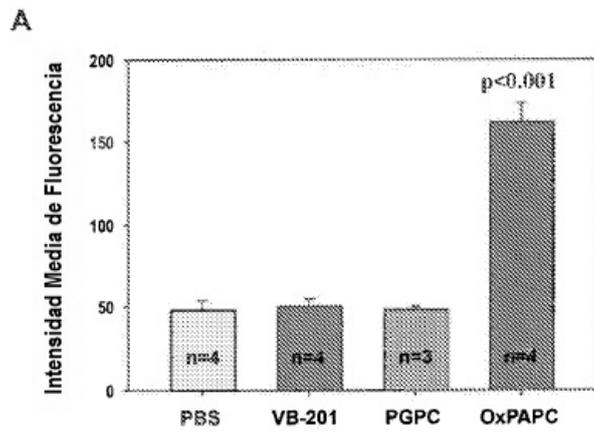
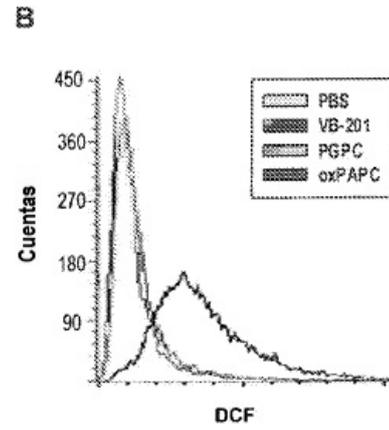


FIG. 23B



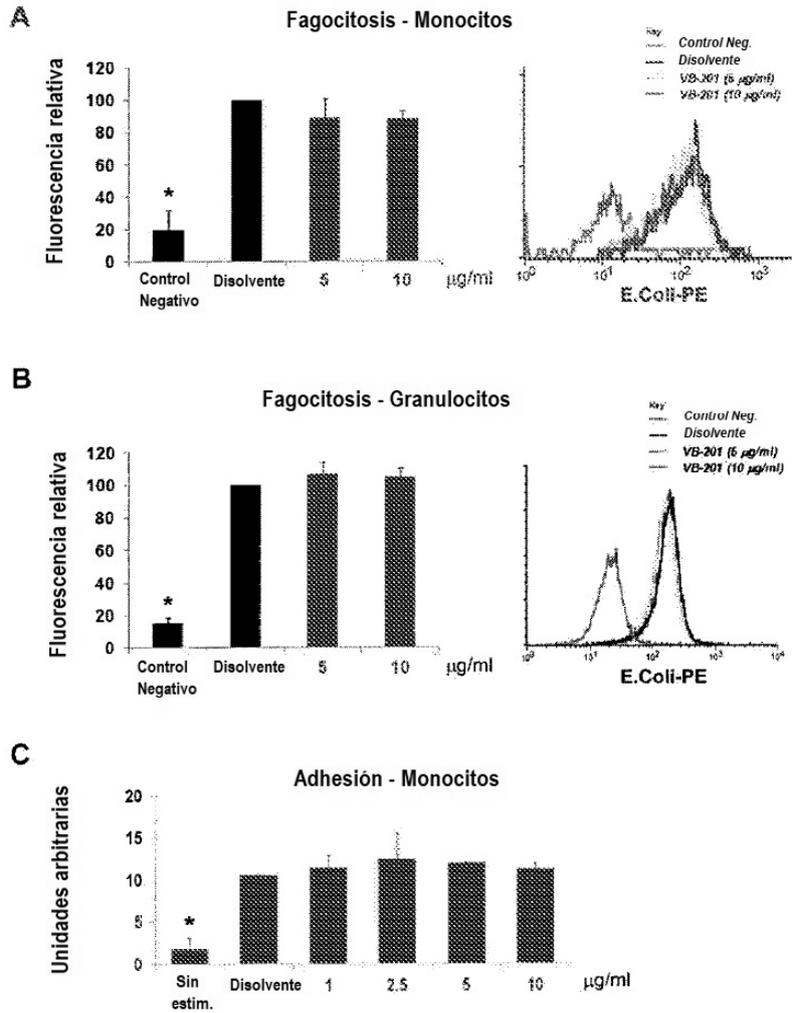


FIG. 24

FIG. 25A

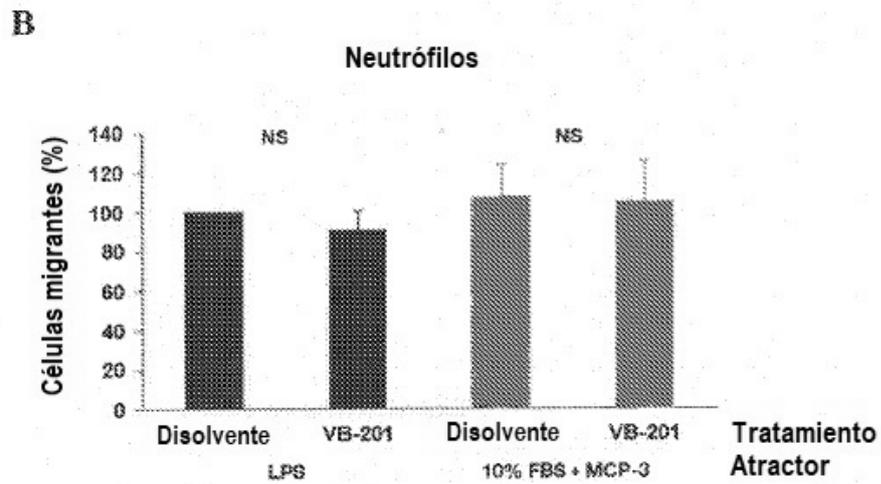
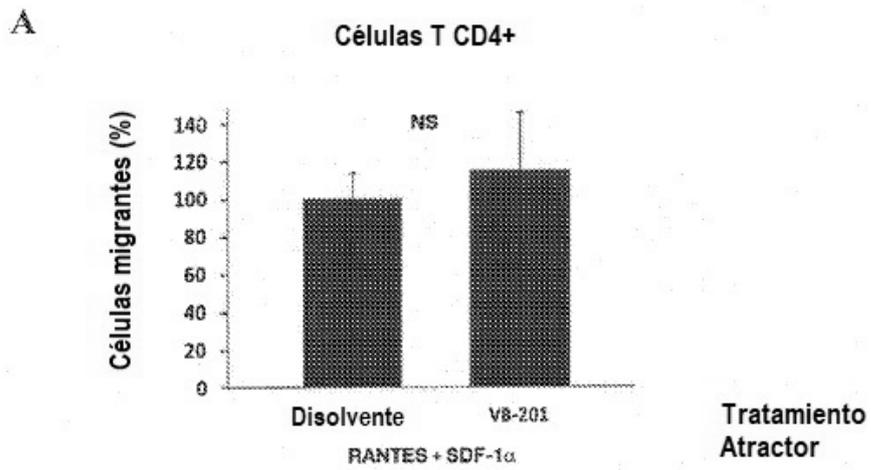


FIG. 25B

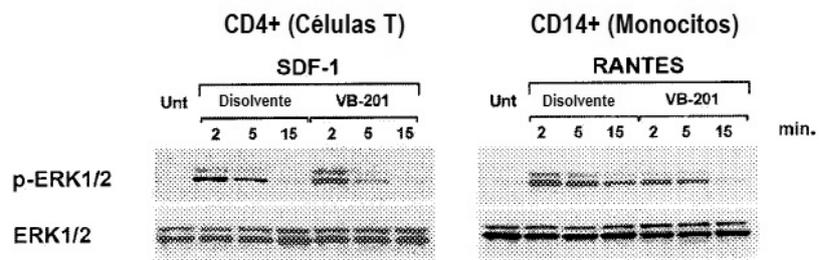


FIG. 25C

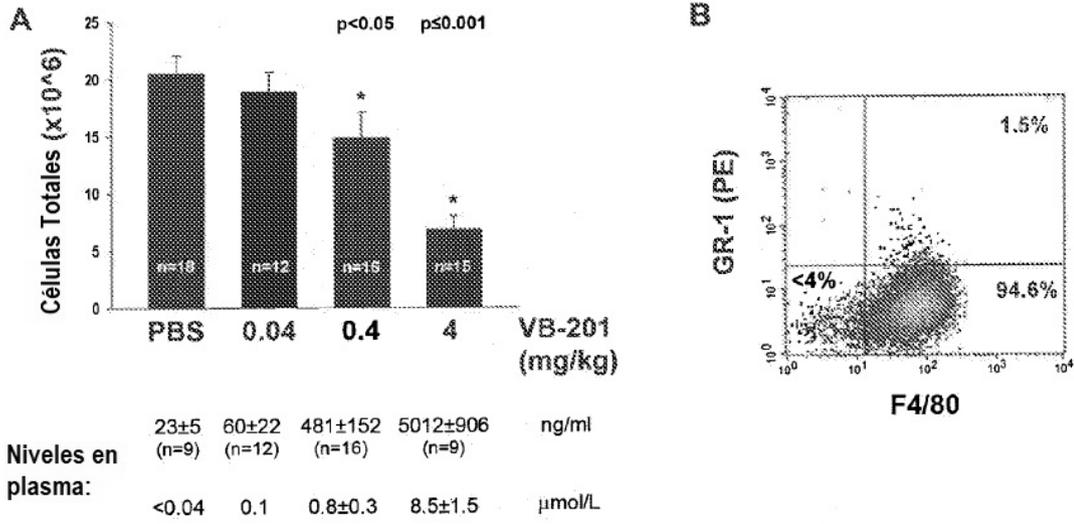


FIG. 26

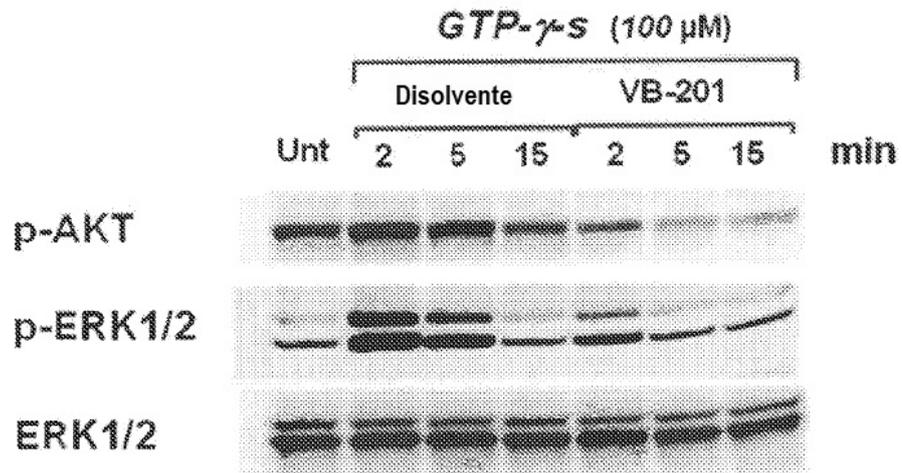


FIG. 27

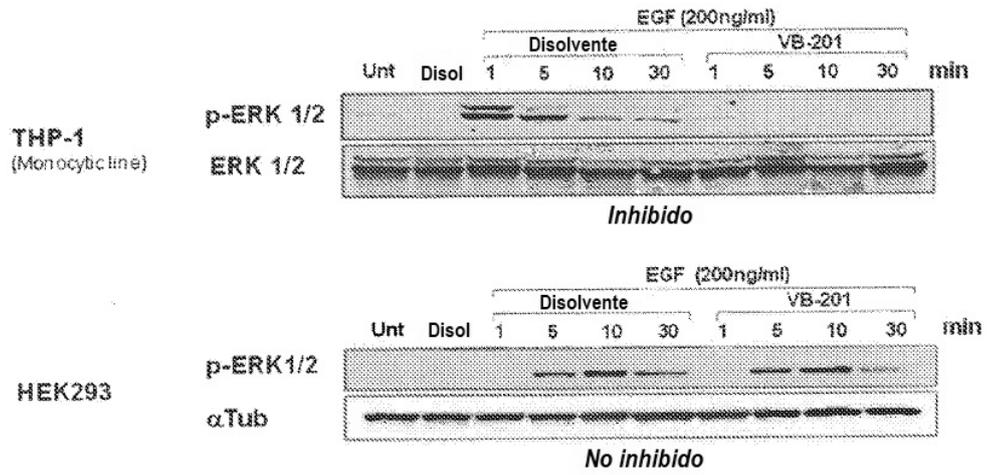


FIG. 28

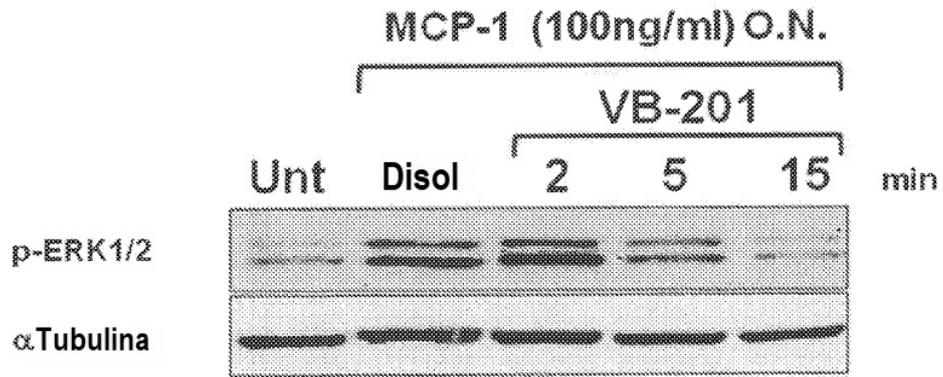


FIG. 29

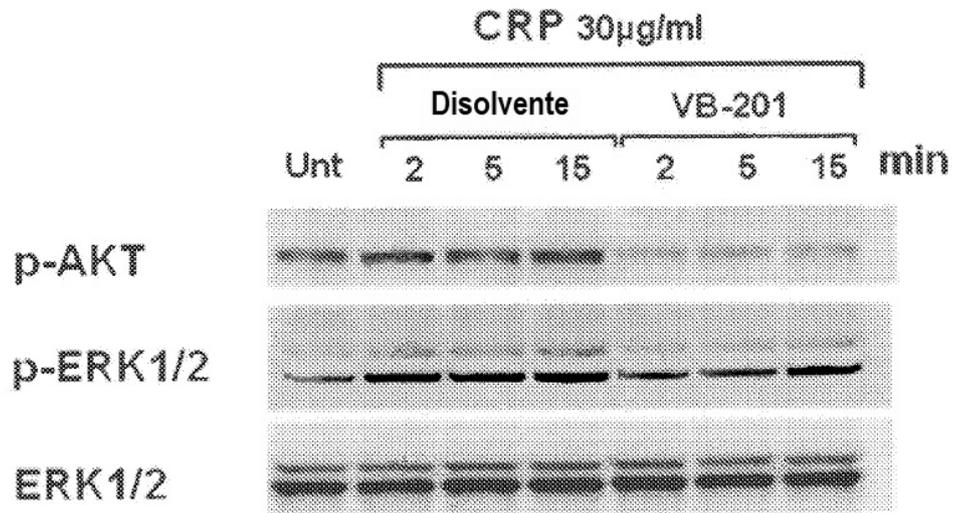


FIG. 30A

FIG. 30B

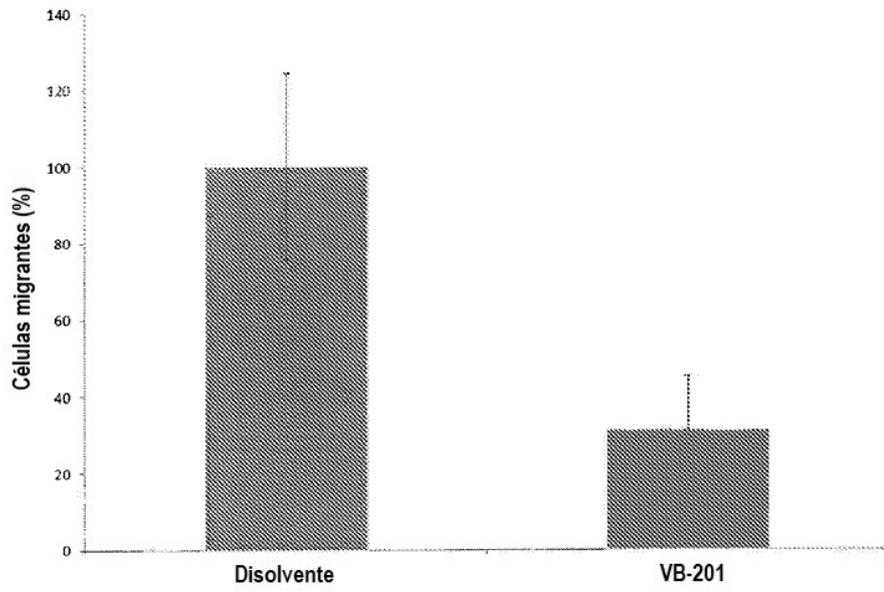
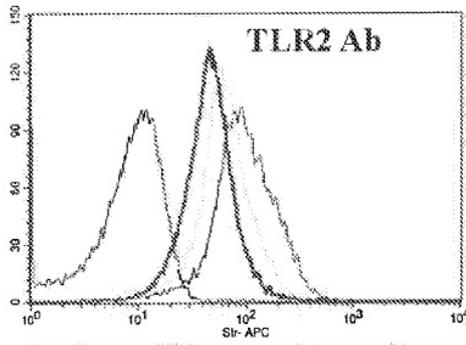


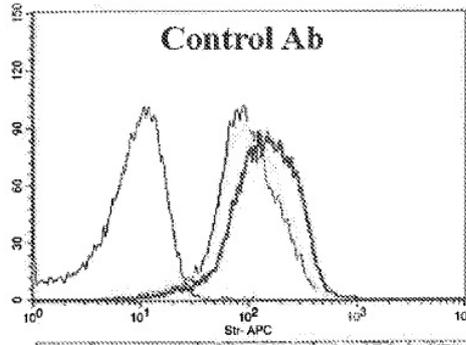
FIG. 31A

FIG. 31B

CD14+ Humano



	anti-TLR2	BO-VB201	Str-APC	MFI
—	-	-	+	10
- - -	-	+	+	116
· · ·	25 µg/ml	+	+	75
—	50 µg/ml	+	+	53



	Control Ab	BO-VB201	Str-APC	MFI
—	-	-	+	10
- - -	-	+	+	116
· · ·	25 µg/ml	+	+	127
—	50 µg/ml	+	+	166

FIG. 32

