

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 989**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/00** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

**C07K 14/415** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2016 PCT/EP2016/067090**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.01.2017 WO17009484**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2016 E 16751491 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020 EP 3322430**

54 Título: **Péptidos antiinflamatorios, y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**16.07.2015 EP 15177013**

**16.07.2015 EP 15177017**

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

**19.02.2021**

73 Titular/es:

**NURITAS LIMITED (100.0%)  
Joshua Dawson House Dawson Street  
Dublin 2, D02 RY95, IE**

72 Inventor/es:

**KHALDI, NORA;  
LOPEZ, CYRIL y  
ADLEFIO, ALESSANDRO**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 806 989 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

Péptidos antiinflamatorios, y usos de los mismos

5 **Antecedentes a la invención**

Se estima que alrededor de 2.000 millones de personas en todo el mundo padecen algún tipo de inflamación. La inflamación es un enorme proceso biológico y una parte integral de nuestra respuesta inmunitaria. La respuesta inflamatoria puede ser aguda (de corta duración) o crónica (de mayor duración) y puede producirse en casi cada parte del cuerpo, ya sea interna o externa. Curiosamente, cualquiera que sea la causa de la inflamación, los cambios biológicos que se producen dentro del cuerpo debido a la respuesta a la inflamación son los mismos en todo el cuerpo, lo que significa que los modos de reducir la inflamación, que llevan diferentes agentes antiinflamatorios, son los mismos en todas las partes del cuerpo.

Por lo general, la inflamación es una respuesta natural y necesaria que elimina las células producidas por lesiones, ataques exteriores o elimina células muertas. Sin embargo, el exceso de inflamación tiene efectos drásticos y a veces perjudiciales en el cuerpo humano. De hecho, una respuesta inflamatoria puede tener consecuencias negativas duraderas, tales como daño tisular. Durante una respuesta inflamatoria, el cuerpo libera enzimas lisosómicas que pueden dañar el tejido e incluso provocar una reacción de hipersensibilidad potencialmente mortal. Estos estados pueden tener efectos duraderos tanto externamente, con el desarrollo de exantemas cutáneos agudos y eccema, como internamente, desencadenando enfermedades tales como enteropatía inflamatoria. Como resultado, mantener un nivel normal de inflamación es muy importante para nuestra salud y bienestar, tanto por dentro como por fuera. Desafortunadamente, la inflamación está en aumento. Uno de los principales factores de este aumento proviene de nuestra exposición a una creciente variedad de agentes externos a los que nuestros cuerpos no están acostumbrados.

La mayoría de los tratamientos antiinflamatorios utilizados hoy en día son fármacos. Existen dos tipos principales de fármacos antiinflamatorios, los corticosteroides y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Estos incluyen: inmunosupresores (metotrexato, ciclosporina); fármacos biológicos específicos (principalmente inhibidores de TNF-alfa, pero también inhibidores de la enzima ciclooxigenasa, por ejemplo); fármacos citotóxicos; y retinoides orales (acitretina). Además, existen tratamientos tópicos para reducir específicamente la inflamación de la piel. Los ejemplos incluyen cremas y pomadas (principalmente a base de cortisona) y tratamientos físicos como las radiaciones UV. Sin embargo, estos fármacos tienen efectos secundarios drásticos, tales como toxicidad gastrointestinal y reacciones anafilactoides. Incluso pueden suprimir el sistema inmunitario hasta el punto de que sea vulnerable a otras enfermedades y patógenos.

Por lo tanto, existe una clara necesidad de identificar agentes que tengan actividad antiinflamatoria que no sean inmunosupresores y/o que no provoquen otros efectos secundarios no deseados. Con ese fin, se sabe que tipos muy específicos de alimentos reducen la inflamación (Kiecolt-Glaser J.K. *et al.* 2010, Middleton E. *et al.* 2000, Chatterjee M. *et al.* 2005). De hecho, los componentes particulares de estos alimentos específicos están en bajas concentraciones, ocultos o encerrados, y una vez identificados y desbloqueados pueden escalarse para seleccionar como diana específicamente la inflamación de una manera reconocida, ya que nuestros cuerpos comprenden los componentes de los alimentos y pueden procesar fácilmente estas moléculas. De hecho, estas moléculas de alimentos en particular pueden reducir la inflamación sin bloquear por completo esta respuesta del sistema inmunitario que pone al cuerpo en un estado vulnerable. También para aquellos con muchas alergias alimentarias, identificar y desbloquear los componentes particulares de un alimento que puede reducir la inflamación permitiría a estas personas obtener los beneficios antiinflamatorios de un alimento al que de otra manera serían alérgicos.

Un objeto de la invención es superar al menos uno de los problemas mencionados anteriormente.

**Declaraciones de la invención**

La invención se refiere a (a) un péptido seleccionado de SEQ ID NO: 343 ó 344, a (b) una variante antiinflamatoria del mismo, que tiene de 1 a 3 alteraciones de aminoácidos en comparación con el péptido, en la que la o cada alteración de aminoácidos se selecciona de inserción, adición, delección y sustitución de un aminoácido, o a (c) un péptido o una variante antiinflamatoria de la invención que se modifica de manera química por modificaciones en cadenas laterales, incorporación de un grupo protector, incorporación de hasta 5 aminoácidos no naturales y/o sus derivados durante la síntesis peptídica, y el uso de agentes reticulantes y otros métodos que imponen restricción conformacional en el péptido (más adelante "péptido de la invención").

La invención también se refiere a un conjugado que comprende un péptido de la invención conjugado, unido o fusionado a una pareja de unión, en el que la pareja de unión se selecciona opcionalmente de un polímero de polietilenglicol, un compuesto que aumenta el peso molecular, un grupo lipófilo o una molécula de anticuerpo.

La invención también se refiere a una composición que comprende uno o más péptidos de la invención. En una realización, la composición comprende SEQ ID NO: 343 y SEQ ID NO: 344. En una realización, la composición es

un polvo.

La invención también proporciona un alimento o una bebida, un complemento nutricional, una composición de cuidado personal o una composición farmacéutica, que comprende una composición según la invención.

5 La invención también proporciona un péptido de la invención, para su uso en un método para el tratamiento o la prevención de inflamación o un trastorno inflamatorio en un mamífero. En una realización, el trastorno inflamatorio se selecciona de un trastorno inflamatorio de la piel, un trastorno inflamatorio de las articulaciones, un trastorno inflamatorio del aparato cardiovascular, un trastorno inflamatorio del pulmón o las vías respiratorias y un trastorno inflamatorio intestinal.

La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un péptido de la invención en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

15 La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende una composición de péptidos de la invención en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

Tales péptidos pueden usarse en productos de cuidado personal, de complemento, alimenticios y farmacéuticos para tratar y mantener niveles saludables de inflamación por todo el cuerpo. La presente invención cumple la enorme necesidad de péptidos específicos derivados de alimentos y composiciones peptídicas que reduce la inflamación de una manera que puede procesarse por el cuerpo sin bloquear completamente la respuesta inmunitaria y provocar problemas autoinmunitarios y otros efectos secundarios no deseables. La invención finalmente está ayudando a los 2.000 millones de personas que padecen inflamación.

25 La invención también se refiere a un producto comestible, por ejemplo, un producto alimenticio que comprende una composición de la invención, por ejemplo, un producto lácteo o no lácteo, un alimento sólido o una bebida, un aditivo o complemento alimenticio. El producto lácteo puede ser leche, queso o yogur. En una realización, el producto alimenticio es un aperitivo. El producto alimenticio puede comprender cualquier cantidad de la composición de la invención, por ejemplo, desde el 0,1% hasta el 30% (p/p).

30 Los péptidos de la invención se usan en la composición cosmética o farmacéutica tópica de esta invención a concentraciones cosmética o farmacéuticamente eficaces para lograr el efecto deseado; en una forma preferida con respecto al peso total de la composición, entre el 0,00000001% (en peso) y 20% (en peso); preferiblemente entre el 0,000001% (en peso) y el 15% (en peso), más preferiblemente entre el 0,0001% (en peso) y el 10% (en peso) e incluso más preferiblemente entre el 0,0001% (en peso) y el 5% (en peso). De manera ideal, los péptidos de la presente invención se usan preferiblemente desde aproximadamente el 0,00001% p/p hasta aproximadamente el 0,5% p/p [de 0,1 a 5000 ppm], y más preferiblemente desde 0,00005 p/p a aproximadamente 0,05 p/p [de 0,5 a 500 ppm], y lo más preferiblemente desde aproximadamente 0,0001 p/p hasta aproximadamente 0,01 p/p de la composición [de 1 a 100 ppm]. De manera ideal, los péptidos de la presente invención se usan preferiblemente desde aproximadamente el 0,0001% p/p hasta aproximadamente el 0,004% p/p de la composición.

Para composiciones de péptidos de la invención, una dosificación diaria típica puede ser de 0,2 g a 100 g.

45 La dosificación de composiciones de la invención para su uso en productos alimenticios y complementos alimenticios (es decir, composiciones comestibles) estará de manera amplia en el intervalo de 0,2-100 g/día. En una realización, la dosificación diaria es de 1-10 g/día, de manera ideal de aproximadamente 3-8 g/día. En una realización, la dosificación diaria es de 10-20 g/día. En una realización, la dosificación diaria es de 20-30 g/día. En una realización, la dosificación diaria es de 30-40 g/día. En una realización, la dosificación diaria es de 10-100 g/día. En una realización, la dosificación diaria es aproximadamente de 5 g/día, de manera ideal aproximadamente 3-8 g/día. En una realización, la dosificación es de 2-1000 mg/día/kg de peso corporal. En una realización, la dosificación es de 10-500 mg/día/kg de peso corporal. En una realización, la dosificación es de 10-100 mg/día/kg de peso corporal. En una realización, la dosificación es de 30-70 mg/día/kg de peso corporal. La dosificación de péptidos de la invención para complementos alimenticios puede ser de 0,00001 mg-0,01 mg por día o dosis.

55 El producto alimenticio puede ser un Alimento para Propósitos Médicos Específicos (FSMP, por sus siglas en inglés) que se define como alimentos que se formulan, procesan y destinan específicamente a la regulación alimenticia de enfermedades, trastornos o estados médicos de individuos que van a tratarse bajo supervisión médica. Estos alimentos se destinan a la alimentación exclusiva o parcial de personas cuyos requisitos nutricionales no pueden satisfacerse por los alimentos normales. La dosis puede ser de 50-500 g por día dependiendo de la edad y el estado del paciente. Cuando se administra como alimento para propósito médico especial o alimento médico, la dosificación diaria puede ser de 50-500 g por día.

65 Los péptidos y las composiciones de la invención también pueden emplearse en el tratamiento no terapéutico de inflamación. Los ejemplos de tratamiento no terapéutico de inflamación incluyen su uso para aliviar inflamación no patológica normal, por ejemplo, inflamación en los músculos y las articulaciones tras el ejercicio.

- La invención también proporciona una composición tópica que comprende un péptido de la invención. Se apreciará que la composición tópica puede comprender una pluralidad de péptidos, fragmentos y/o variantes. En una realización, la composición tópica comprende sustancialmente todos los péptidos. En una realización, la composición tópica comprende sustancialmente todas las variantes. La composición tópica de la invención puede presentarse en una formulación seleccionada del grupo que comprende cremas, emulsiones múltiples, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles crema, disoluciones hidroalcohólicas, disoluciones hidroglicólicas, producto de cuidado personal cosmético, hidrogeles, linimentos, sueros, jabones, polvo para uso externo, pasta, formulaciones semisólidas, linimentos, sueros, champú, acondicionador, pomadas, cualquier formulación de aclarado, talco, cremas, polvos, pulverizadores, aerosoles, disoluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires, películas de polisacáridos, parches, parches de gel, vendas, un sistema adhesivo, emulsiones agua en aceite, emulsiones aceite en agua y emulsiones de silicona. En una realización de la presente invención, la emulsión contiene un lípido o aceite. La emulsión puede ser, pero no se limita a, emulsiones de aceite en agua, agua en aceite, agua en aceite en agua y aceite en agua en silicona. La emulsión puede contener un agente humectante. La emulsión puede contener un agente antiespumante, tal como silicona. La emulsión puede tener cualquier viscosidad adecuada. Las emulsiones pueden contener además un emulgente y/o un agente antiespumante. Los métodos de preparación de una emulsión son conocidos para un experto en la técnica.
- La composición tópica de la invención puede incorporarse en un dispositivo médico para la administración. Un dispositivo de este tipo puede incluir, pero no se limita a, un material textil, parche, venda, calibrador, calcetín, medias, ropa interior, apósito, guante, máscara, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos y parches microeléctricos o un sistema adhesivo adecuado. En una realización de este tipo, el dispositivo está en contacto directo con la capa queratinosa tal como la piel, liberando así los péptidos de la invención. Se entenderá que la composición tópica puede incorporarse en cualquier forma adecuada tal como se detalla en el presente documento. Por ejemplo, la composición tópica o los péptidos de la invención pueden incorporarse en el dispositivo o están presentes en la superficie del dispositivo o puede estar en una formulación de crema, gel o cera o cualquier formulación adecuada definida en el presente documento e incorporarse en el dispositivo o en la superficie del dispositivo. El dispositivo puede adaptarse para la adhesión o unión a la piel.
- En una realización el dispositivo se adapta para liberar una cantidad constante de la composición o los péptidos de la invención. Se entenderá que la cantidad de la composición contenida en el sistema de liberación sostenida dependerá, por ejemplo, de dónde va a administrarse la composición, la cinética y la duración de la liberación de la composición de la invención, así como de la naturaleza del estado, trastorno y/o la enfermedad que va a tratarse y/o que va a cuidarse. El dispositivo puede ser tal que la composición se libera por biodegradación del dispositivo, o por fricción entre el dispositivo y el cuerpo, debido a la humedad corporal, el pH de la piel o la temperatura corporal.
- En una realización de la invención, la composición tópica puede comprender además al menos un excipiente cosmética o farmacéuticamente aceptable. El excipiente puede usarse de manera intercambiable con un componente o aditivo funcional. Se entenderá que aunque las composiciones tópicas de la presente invención pueden administrarse solas, se administrarán generalmente en mezcla con un excipiente cosmético o farmacéutico. Los excipientes cosmética o farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica y cualquier excipiente conocido puede usarse siempre que sea adecuado para la administración tópica y sea dermatológicamente aceptable sin toxicidad, incompatibilidad y/o reacción alérgica indebida.
- Preferiblemente, cualquier excipiente incluido está presente en cantidades traza. La cantidad de excipiente incluido dependerá de numerosos factores, incluyendo el tipo de excipiente usado, la naturaleza del excipiente, el/los componente(s) de la composición tópica, la cantidad de principio activo o péptido en la composición tópica y/o el uso previsto de la composición tópica. La naturaleza y cantidad de cualquier excipiente no debe alterar de manera inaceptable los beneficios de los péptidos de esta invención.
- En una realización de la invención el excipiente puede ser un diluyente, portador, aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento, conservante, estabilizador, colorantes, vehículo, agente de solubilización, base, emoliente, agente de emulsificación, fragancia, agente humectante y/o tensioactivos adecuados. Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a, cualquier diluyente dado a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667. Los ejemplos incluyen etanol, glicerol y agua.
- Los ejemplos de portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y cualquier portador adecuado dado a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.
- Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol y cualquier aglutinante adecuado dado a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.
- Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, oleato de sodio, estearato de sodio, estearato

de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio y cloruro de sodio y cualquier lubricante adecuado dado a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

5 El portador puede ser cualquiera adecuado conocido en la técnica o dado a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667. En algunas realizaciones, el portador puede incluir, pero no se limita a, un líquido, tal como agua, aceites o tensioactivos, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, polímero, aceite, tal como aceite de cacahuete, aceite mineral, aceite de ricino, aceite de soja, alcohol, polisorbatos, ésteres de sorbitano, sulfatos de éter, sulfatos, betaínas, glicósidos, maltósidos, alcoholes grasos, nonoxinoles, poloxámeros, polioxietilenos, polietilenglicoles, dextrosa, glicerol o digitonina. Se entenderá que el portador será  
10 dermatológicamente aceptable. Los portadores preferidos contienen una emulsión tal como emulsiones de aceite en agua, agua en aceite, agua en aceite en agua y aceite en agua en silicona. Las emulsiones pueden contener adicionalmente un emulgente y/o un agente antiespumante.

15 En una realización de la invención, la composición tópica puede comprender además uno o más componentes adicionales. La composición tópica de la invención puede administrarse de manera consecutiva, simultánea o secuencialmente con el uno o más otros agentes adicionales. Tales componentes adicionales pueden ser beneficiosos para incluirlos en una composición tópica, o beneficiosos dependiendo del uso previsto de la composición tópica. El componente adicional puede ser activo o funcional o ambos.

20 Los ejemplos de tales componentes adicionales incluyen, pero no se limitan a, uno o más de agentes de limpieza, agentes de acondicionamiento, filtro solar, pigmento, crema hidratante, agentes espesantes, agentes gelificantes, aceite esencial, estípticos, pigmentos, agente antiaglomerante, agente antiespumante, aglutinantes, aditivos, tampones, agentes quelantes, analgésicos externos, formadores o materiales de película, agentes de carga, polímeros, agentes de opacificación, ajustadores del pH, propelentes, agentes reductores, secuestrantes, agentes de decoloración y aclaramiento de la piel, agentes de acondicionamiento de la piel, aloe vera, agentes de cicatrización, agentes calmantes, agentes de suavizado, ácido pantoténico, agentes tratantes, espesantes, vitaminas, colorantes, sustancias farmacéuticas, agentes antisépticos, agentes antiespumantes, agentes de tamponamiento, estípticos, polímeros, ajustador del pH, desodorante o cualquier otro portador o tensioactivo dermatológicamente aceptable.  
25

30 Debe entenderse que los componentes adicionales enumerados pueden proporcionar más de un beneficio. La clasificación dada en el presente documento es solo por claridad y conveniencia y no pretende limitar el componente adicional a esa aplicación particular o categoría en la lista.

35 Cualquier componente adicional debe ser adecuado para la aplicación en la piel sin toxicidad, incompatibilidad y/o reacción alérgica indebida.

40 En algunas realizaciones, el componente adicional tiene actividad de transporte de glucosa o ayuda a la actividad de transporte de glucosa. En algunas realizaciones, el componente adicional tiene actividad antiinflamatoria o ayuda a la actividad antiinflamatoria. En algunas realizaciones, el componente adicional tiene actividad antienvjecimiento o ayuda a la actividad antienvjecimiento. En algunas realizaciones, el componente adicional es para la salud y/o el desarrollo de la capa queratinosa, salud y/o desarrollo de la piel, y/o salud, recuperación y/o desarrollo muscular. El agente activo puede ser un potenciador farmacológico. Tales agentes activos se conocen y están disponibles en el mercado. En tales casos, la composición tópica de la invención puede administrarse de manera consecutiva, simultánea o secuencial con uno o más de otros agentes activos.  
45

50 En algunas realizaciones, el componente adicional puede ser farnesol ([2E,6E]-3,7,11-trimetil-2,6,10, dodecatrien-1-ol), fitantriol (3,7,11,15, tetrametilhexadecano-1,2,3,-triol), principios activos de descamación, enzimas, inhibidores enzimáticos, activadores enzimáticos, extractos botánicos y extractos marinos, principios activos antiacné, principios activos antiarrugas o antiatrofia, eliminadores de antioxidantes/radicales, agentes quelantes, flavonoides, agentes antiinflamatorios, agentes anticelulíticos, anestésicos tópicos, principios activos bronceadores, agentes de aclaramiento de la piel, agentes de cicatrización de la piel, bisabolol, principios activos antimicrobianos o antifúngicos, principios activos de filtros solares, material particulado, agentes de acondicionamiento, agentes de estructuración, agente espesante.  
55

El principio activo de descamación puede ser cualquier agente adecuado que potencie el aspecto de la piel o la textura de la piel y es tal como se da conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

60 Los ejemplos de principios activos antiacné son tal como se dan a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 e incluyen, resorcinol, ácido salicílico, eritromicina, zinc, azufre, peróxidos de benzoílo.

Los ejemplos de agentes espesantes son tal como se dan a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 e incluyen polímeros de ácido carboxílico, polímeros de poliacrilato reticulado, polímeros de poliacrilamida, polisacáridos.  
65

Los ejemplos de agentes de acondicionamiento son tal como se dan a conocer en los documentos US2014120131 o

US2004132667 e incluyen agentes humectantes, crema hidratante o acondicionador de la piel.

Los ejemplos de agentes de estructuración son tal como se dan a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 e incluyen cualquier agente que proporcione características reológicas a la composición y contribuya a la estabilidad de la composición.

Puede usarse cualquier principio activo antimicrobiano o antifúngico adecuado y los ejemplos son como los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667. Tales principios activos pueden destruir microbios, impedir el crecimiento o acción de microbios. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a fármacos de  $\beta$ -lactama, fármacos de quinolona, tetraciclina, eritromicina, sulfato de estreptomina, ácido salicílico, peróxido de benzoilo.

Los ejemplos de un material particulado incluyen óxido metálico. Los ejemplos de agentes anticelulíticos incluyen agentes de xantina. Los ejemplos de principios activos bronceadores incluyen 1,3-dihidroxi-2-propanona y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667. Los ejemplos de anestésicos tópicos incluyen benzocaína, lidocaína y bupivacaína y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

Los ejemplos de agentes de aclaramiento de la piel incluyen cualquier agente conocido en la técnica tal como ácido kójico, ácido ascórbico y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

Los ejemplos de principios activos de filtros solares incluyen cualquier principio de filtro solar orgánico o inorgánico. Los ejemplos incluyen óxidos metálicos, 2-etilhexil-p-metoxicinamato y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

Los ejemplos de agentes de cicatrización de la piel incluyen ácido pantenico tal como se da a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

Los ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen cualquier agente que mejore el aspecto, el tono o el color de la piel e incluye, entre otros, corticosteroides, hidrocortisona, agentes no esteroideos como el ibuprofeno y la aspirina y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

Los ejemplos de flavonoides incluyen flavanonas, metoxiflavononas, calcona no sustituida y sus mezclas y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667.

Los ejemplos de enzimas incluyen lipasas, proteasas, catalasa, superóxido-dismutasa, amilasa, peroxidasa, glucuronidasa, ceramidasa, hialuronidasas. Los ejemplos de inhibidores enzimáticos incluyen inhibidores de tripsina, inhibidores de Bowmann Birk, inhibidores de quimotripsina, extractos botánicos, flavonoides, quercetina calcona y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 y mezclas de los mismos. Los ejemplos de activadores enzimáticos incluyen coenzima A, Q10 (ubiquinona), glicirricina, berberina, crisina y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de principios activos antiarrugas o antiatrofia incluyen aminoácidos D y L que contienen azufre, en particular, derivados de N-acilo tales como N-acetil-L-cisteína, ácidos hidroxílicos, ácido fítico, ácido lipoico, ácido lisofosfatídico, agentes de exfoliación de la piel, vitamina B<sub>3</sub>, retinoides y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 y mezclas de los mismos.

El agente eliminador de antioxidantes/radicales puede ser cualquier agente que sea útil para proporcionar protección contra la radiación UV u otros agentes ambientales que pueden provocar daños en la piel, tal como los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667. Los ejemplos de eliminadores de antioxidantes/radicales incluyen ácido ascórbico, sus sales y derivados (vitamina C), tocoferol, sus sales y derivados (vitamina E), ácidos hidroxilbenzoicos butilados y sus sales, peróxidos, ácidos gálicos y ésteres alquílicos, ácido sórbico, ácido lipoico, aminos, pidolato de licina, pilolato de arginina, ácido nordihidroguaiarético, bioflavonoides, curcumina, lisina, metionina, prolina, superóxido dismutasa, silimarina, extractos de té y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de agentes quelantes incluyen EDTA, NTA, ácidos hidoxámicos, ácido fítico, lactoferrina y los dados a conocer en los documentos US2014120131 o US2004132667 y mezclas de los mismos. Un agente quelante significa un agente que puede retirar un ion metálico formando un complejo para que el ion metálico no pueda participar o catalizar reacciones químicas. Un agente quelante es útil para la protección contra la radiación UV u otros agentes ambientales que pueden provocar daños en la piel.

Se apreciará que puede añadirse una pluralidad de componentes adicionales. La cantidad del componente adicional puede ser desde aproximadamente el 0,001% hasta aproximadamente el 50% en peso de la composición, preferiblemente, de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 20%, preferiblemente de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 10%, de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 10%, de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 5%, preferiblemente el 2% en peso de la composición. La cantidad de componente adicional incluido dependerá de numerosos factores, incluyendo el tipo de componente adicional usado, la naturaleza del componente adicional, el/los componente(s) de la composición tópica, la cantidad de principio activo o

péptido en la composición tópica y/o el uso previsto de la composición tópica. La naturaleza y cantidad de cualquier componente adicional no deberá alterar de manera inaceptable los beneficios de los péptidos de esta invención.

La composición tópica puede estar libre de alcohol.

5 En algunas realizaciones de la invención, la composición comprende además uno o más agentes activos adicionales, además del péptido de la invención (también conocido como principio activo de la composición). Además, o alternativamente, la composición puede administrarse con uno o más de otros agentes activos adicionales. Dicho agente activo adicional típico está presente sólo en cantidades traza. En algunas realizaciones, 10 puede no haber agente activo adicional presente en la composición. La cantidad de agente activo adicional incluido dependerá de numerosos factores, incluyendo el tipo de agente activo adicional usado, la naturaleza del agente activo adicional, el/los componente(s) de la composición tópica, la cantidad de principio activo o péptido en la composición tópica y/o el uso previsto de la composición tópica. La naturaleza y cantidad de cualquier componente adicional no deberá alterar de manera inaceptable los beneficios de los péptidos de esta invención.

15 Debe entenderse que un componente que se considera un principio "activo" en un producto puede ser un componente "funcional" o "excipiente" en otro y viceversa. También se apreciará que algunos componentes desempeñan un doble papel como principio activo y como componente funcional o excipiente.

20 Los ejemplos de los agentes activos adicionales incluyen fármacos promotores del transporte de glucosa, complementos para la piel, agentes para el tratamiento y/o cuidado de la piel, agentes antiinflamatorios, un agente antienvjecimiento, un agente promotor del crecimiento celular y potenciadores farmacológicos. Tales agentes se conocen bien en la técnica y se apreciará que puede usarse cualquier agente activo adicional adecuado. Los agentes activos adicionales para el tratamiento y/o cuidado de la piel pueden incluir agentes de síntesis de colágeno, 25 retinoides, agentes exfoliantes, agentes anticelulíticos, agentes inhibidores de elastasa, agentes estimulantes o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes autobronceadores, agentes antienvjecimiento, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, agentes fungistáticos, agentes bactericidas y agentes de cicatrización. Los agentes activos también incluyen agentes antiinflamatorios.

30 Cualquier agente activo adicional deberá ser adecuado para la aplicación a la piel sin toxicidad, incompatibilidad y/o reacción alérgica inadecuada.

Se entenderá que la clasificación dada en el presente documento es solo por claridad y conveniencia y no pretende limitar el componente adicional, excipiente o principio activo para esa aplicación particular o categoría enumerada.

35 En una realización particularmente preferida, los métodos y usos de la invención implican la administración de un péptido o composición de la invención en combinación con uno o más de otros agentes activos, por ejemplo, fármacos promotores del crecimiento existentes o potenciadores farmacológicos disponibles en el mercado. En tales casos, los compuestos de la invención pueden administrarse de manera consecutiva, simultánea o secuencial con el 40 uno o más de otros agentes activos.

El efecto de la presente invención se logra mediante la aplicación o administración tópica de la composición tópica de la invención descrita en el presente documento a una persona, animal o paciente que necesita tratamiento o cuidado. La administración tópica significa preferiblemente la administración a una capa queratinosa tal como la piel, 45 el cabello y/o las uñas, pero también puede significar la administración a una luz corporal revestida con células epiteliales, por ejemplo, los pulmones o las vías respiratorias, el tracto digestivo, la cavidad bucal. El efecto puede limitarse a la superficie de la piel o puede estar dentro de la piel o una combinación de ambos.

50 La composición tópica de la invención se administra en una cantidad cosmética o farmacéuticamente eficaz. Dicho de otro modo, en una cantidad que no sea tóxica pero que sea suficiente para proporcionar el efecto deseado. Se apreciará que una persona experta en la técnica podría determinar una dosis apropiada de las composiciones tópicas de la invención para administrar sin experimentación excesiva. Alternativamente, un médico determinará la dosis real que sea más adecuada para un paciente dependiendo del estado, la enfermedad o el trastorno particular que va a tratarse o cuidarse y la edad, peso corporal y/o salud de la persona. Dependerá de una variedad de 55 factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad del estado particular y el individuo que se somete a terapia. Por supuesto, puede haber casos individuales en los que se merecen intervalos de dosificación más altos o más bajos, y tales están dentro del alcance de esta invención. Por ejemplo, la composición puede administrarse a una dosis de 0,01 a 50 mg/kg de peso corporal, tal como de 0,1 a 30 mg/kg, más 60 preferiblemente de 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal, preferiblemente de 0,1 a 5 mg/kg de peso corporal. En una realización a modo de ejemplo, se administrarán una o más dosis de 10 a 300 mg/día o más preferiblemente, de 10 a 150 mg/día, al paciente. La cantidad y la frecuencia son las más adecuadas para el propósito. La frecuencia de aplicación o administración puede variar mucho, 65 dependiendo de las necesidades de cada sujeto, con una recomendación de una aplicación o administración que varía de una vez al mes a diez veces al día, preferiblemente de una vez a la semana a cuatro veces al día, más

preferiblemente de tres veces a la semana a tres veces al día, incluso más preferiblemente una o dos veces al día.

En realizaciones preferidas, se proporciona un uso repetido de la composición tópica. La composición tópica puede aplicarse, pero no se limita a, frotar o masajear el tejido queratinoso, la piel o el área del cuerpo que va a tratarse o cuidarse. En algunas realizaciones, la composición se deja o no se retira del área del cuerpo. En otras realizaciones, la composición se retira después de un periodo de tiempo, tal como, pero sin limitación, de desde aproximadamente 2 minutos hasta 60 minutos, desde aproximadamente 5 minutos hasta aproximadamente 30 minutos, preferiblemente desde aproximadamente 10 minutos hasta aproximadamente 20 minutos. La composición puede retirarse inmediatamente después de la aplicación. En algunas realizaciones de la presente invención, la composición de la invención puede aplicarse en un área que va a tratarse mediante medios para lograr una mayor penetración de la composición y/o el péptido de la invención, tal como, pero sin limitarse a, iontoforesis, sonoforesis, electroporación, parches microeléctricos, presión mecánica, gradiente de presión osmótica, cura oclusiva, microinyecciones o inyecciones sin aguja por medio de presión, tales como inyecciones por presión de oxígeno, o cualquier combinación de las mismas.

Los péptidos de la invención se usan en la composición cosmética o farmacéutica tópica de esta invención a concentraciones cosmética o farmacéuticamente eficaces para lograr el efecto deseado; en una forma preferida con respecto al peso total de la composición, entre el 0,0000001% (en peso) y el 20% (en peso); preferiblemente entre el 0,00001% (en peso) y el 15% (en peso), más preferiblemente entre el 0,0001% (en peso) y el 10% (en peso) e incluso más preferiblemente entre el 0,0001% (en peso) y el 5% (en peso).

En algunas realizaciones de la presente invención, la composición puede administrarse a través de uno cualquiera de liposomas, liposomas mixtos, oleosomas, niosomas, etosomas, millicápsulas, cápsulas, macrocápsulas, nanocápsulas, portadores lipídicos nanoestructurados, esponjas, ciclodextrinas, vesículas, micelas, micelas mixtas de tensioactivos, micelas mixtas tensioactivo-fosfolípido, millesferas, esferas, lipoesferas, partículas, nanoesferas, nanopartículas, milipartículas, nanopartículas sólidas así como microemulsiones incluyendo agua en aceite microemulsiones con una estructura interna de micela inversa y microsferas, micropartículas de nanoemulsiones.

Están disponibles una variedad de métodos para preparar liposomas. Véanse, por ejemplo, Szoka *et al.*, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9:467 (1980), las patentes estadounidenses n.ºs 4.186.183, 4.217.344, 4.235.871, 4.261.975, 4.485.054, 4.501.728, 4.774.085, 4.837.028, 4.235.871, 4.261.975, 4.485.054, 4.501.728, 4.774.085, 4.837.028, 4.946.787, publicación PCT n.º WO 91/17424, Deamer & Bangham, *Biochim. Biophys. Acta* 443:629-634 (1976); Fraley, *et al.*, *PNAS* 76:3348-3352 (1979); Hope *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 812:55-65 (1985); Mayer *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 858:161-168 (1986); Williams *et al.*, *PNAS* 85:242-246 (1988); Liposomes (Ostro (ed.), 1983, capítulo 1); Hope *et al.*, *Chem. Phys. Lip.* 40:89 (1986); Gregoriadis, *Liposome Technology* (1984) y Lasic, *Liposomes: from Physics to Applications* (1993)). Los métodos incluyen, por ejemplo, sonicación, extrusión, alta presión/homogenización, microfluidización, diálisis con detergentes, fusión inducida por calcio de vehículos de liposomas pequeños y métodos de fusión con éter, todos los cuales son bien conocidos en la técnica.

Estos sistemas de administración pueden adaptarse para lograr una mayor penetración del compuesto y/o los péptidos de la invención. Esto puede mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. El sistema de administración puede ser un sistema de liberación sostenida en el que el compuesto o péptido de la invención se libera de manera gradual durante un periodo de tiempo y preferiblemente con una tasa de liberación constante a lo largo de un periodo de tiempo. Los sistemas de administración se preparan mediante métodos conocidos en la técnica. La cantidad de péptido contenido en el sistema de liberación sostenida dependerá de dónde se administrará la composición y la duración de la liberación, así como del tipo del estado, la enfermedad y/o el trastorno que va a tratarse o cuidarse.

La composición tópica de la invención puede ser para uso humano o animal en medicina humana y veterinaria.

La composición tópica de la invención puede usarse para usos farmacéuticos, de cuidado personal y/o cosméticos.

La composición puede usarse para tratar o cuidar cualquier enfermedad, trastorno o estado de la piel, que incluye, entre otros, psoriasis, dermatitis, dermatitis alérgica, eccema, espongiosis, edema, cáncer de piel, úlceras, acné, cicatrices, celulitis, elastosis, queratosis, rosácea, varices, trastornos inflamatorios.

La composición tópica puede usarse para tratar o cuidar los signos visibles del envejecimiento, incluyendo, pero sin limitarse a, arrugas, estrías y ojeras, sequedad, líneas de expresión, manchas de la edad, erupciones rojas, piel flácida y estados por la exposición al sol, que incluyen quemaduras solares, estrés, contaminación y/o dieta. La composición tópica también puede usarse para retrasar, ralentizar o inhibir las pieles o el inicio del envejecimiento. La composición puede administrarse mediante un dispositivo médico, tal como un esparadrapo o un parche tal como se describe en el presente documento.

La composición tópica puede usarse para tratar o cuidar una herida en un mamífero. En otra realización, la composición tópica es para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o estado caracterizados por células o tejidos epiteliales dañados, y/o células o tejidos dérmicos o epiteliales dañados. La enfermedad puede ser,

pero no se limita a, cáncer y traumatismo.

La composición tópica puede usarse para tratar o cuidar cualquier estado muscular, para mejorar el estado muscular en un mamífero, para promover la recuperación muscular, normalmente después del ejercicio, para mantener o restaurar la salud muscular (por ejemplo, masa de tejido magro) en un mamífero, para mejorar el rendimiento físico, en el tratamiento o prevención de una enfermedad o un estado caracterizados por letargo o bajos niveles de energía.

La composición tópica puede usarse para promover el crecimiento de un tejido, promover el crecimiento de tejido epitelial, promover el crecimiento de la piel, promover el crecimiento de un órgano, promover el crecimiento de un organismo. La piel puede tener una patología normal y/o una patología anómala.

La composición tópica también puede usarse para tratar o cuidar cualquier trastorno inflamatorio.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un péptido de la invención o una composición de péptidos de la invención, mezclados con uno o más diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Incluso aunque los péptidos y las composiciones de la presente invención pueden administrarse solos, se administrarán generalmente en mezcla con un portador, excipiente o diluyente farmacéutico, particularmente para terapia en seres humanos. Las composiciones farmacéuticas pueden ser para uso humano o animal en medicina humana y veterinaria. Los ejemplos de tales excipientes adecuados para las diversas formas de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden encontrarse en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª edición, (1994), editado por A Wade y PJ Weller. En particular, se describen formulaciones para administración tópica en Topical drug delivery formulations editado por David Osborne y Antonio Aman, Taylor & Francis, del que el contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia. Se conocen bien portadores o diluyentes adecuados para uso terapéutico en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Los ejemplos de portadores adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen etanol, glicerol y agua. La elección del portador, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía prevista de administración y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como, o además de, el portador, excipiente o diluyente cualquier aglutinante(s), lubricante(s), agente(s) de suspensión, agente(s) de recubrimiento, agente(s) de solubilización adecuados. Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como arábica, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol. Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Pueden proporcionarse conservantes, estabilizadores, colorantes e incluso agentes aromatizantes en la composición farmacéutica. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También pueden usarse antioxidantes y agentes de suspensión.

El péptido o la composición de la invención puede adaptarse para las vías de administración tópica, oral, rectal, parenteral, intramuscular, intraperitoneal, intraarterial, intrabronquial, subcutánea, intradérmica, intravenosa, nasal, vaginal, bucal o sublingual. Para la administración oral, se hace un uso particular de comprimidos fabricados por compresión, píldoras, comprimidos, cápsulas duras, gotas y cápsulas. Preferiblemente, estas composiciones contienen de 1 a 250 mg y más preferiblemente de 10-100 mg de principio activo por dosis. Otras formas de administración comprenden disoluciones o emulsiones que pueden inyectarse por vía intravenosa, intraarterial, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal o intramuscular, y que se preparan a partir de disoluciones estériles o que pueden esterilizarse. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden estar en forma de supositorios, anillos vaginales, óvulos vaginales, suspensiones, emulsiones, lociones, pomadas, cremas, geles, pulverizadores, disoluciones o polvos para uso externo. La composición de la invención puede formularse para administración tópica. La administración tópica significa generalmente administración a la piel, pero también puede significar la administración a una luz del cuerpo revestida de células epiteliales, por ejemplo, los pulmones o las vías respiratorias, el tracto gastrointestinal, la cavidad bucal. En particular, las formulaciones para administración tópica se describen en Topical drug delivery formulations editado por David Osborne y Antonio Aman, Taylor & Francis, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia. Las composiciones o formulaciones para la administración a las vías respiratorias se describen en O'Riordan *et al* (Respir Care, 2002, nov. 47), los documentos EP2050437, WO2005023290, US2010098660 y US20070053845. La composición y las formulaciones para administrar agentes activos al íleo, especialmente al íleo proximal, incluyen micropartículas y microencapsulados en los que el agente activo se encapsula dentro de una matriz protectora formada por polímero o proteína láctea que es resistente al ácido pero propensa a la disolución en el ambiente más alcalino del íleon. Los ejemplos de tales sistemas de administración se describen en los documentos EP1072600.2 y EP13171757.1. Un medio alternativo de administración transdérmica es mediante el uso de un parche para la piel. Por ejemplo, el principio activo puede incorporarse en una crema que consiste en una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. El principio activo también puede incorporarse, a una concentración de entre el 1 y el 10% en peso, en una pomada que consiste en una cera blanca o una base de parafina blanda blanca junto con los estabilizadores y conservantes que se requieran.

Las formas inyectables pueden contener entre 10-1000 mg, preferiblemente entre 10-250 mg, de principio activo por dosis. Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, es decir, en forma de porciones discretas que contienen una dosis unitaria, o una unidad múltiple o subunidad de una dosis unitaria.

5 Un experto habitual en la técnica puede determinar fácilmente una dosis apropiada de una de las presentes composiciones para administrar a un sujeto sin experimentación excesiva. Normalmente, un médico determinará la dosis real que será más adecuada para un paciente individual y dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad del estado particular y el individuo que se somete a terapia. 10 Las dosificaciones dadas a conocer en el presente documento son a modo de ejemplo del caso promedio. Por supuesto, puede haber casos individuales en los que se merecen intervalos de dosificación más altos o más bajos, y tales están dentro del alcance de esta invención. Dependiendo de la necesidad, el agente puede administrarse a una 15 dosis de desde 0,01 hasta 30 mg/kg de peso corporal, tal como desde 0,1 hasta 10 mg/kg, más preferiblemente desde 0,1 hasta 1 mg/kg de peso corporal. En una realización a modo de ejemplo, se administrarán una o más dosis de 10 a 300 mg/día o más preferiblemente, de 10 a 150 mg/día, al paciente para el tratamiento de un trastorno inflamatorio.

20 En una realización particularmente preferida, los métodos y usos de la invención implican la administración de un péptido o una composición de la invención en combinación con uno o más de otros agentes activos, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios existentes o potenciadores farmacológicos disponibles en el mercado. En tales casos, los compuestos de la invención pueden administrarse de manera consecutiva, simultánea o secuencial con uno o más de otros agentes activos.

25 En una realización de la invención, el péptido de la invención puede administrarse en forma de un conjugado que comprende el péptido, y puede incluir opcionalmente un ligador y una molécula asociada, por ejemplo, una proteína tal como una molécula de anticuerpo destinada a aumentar la semivida del conjugado *in vivo*. En una realización, el péptido puede modificarse para sustituir uno o más aminoácidos con aminoácidos empleados para unir moléculas asociadas. Por ejemplo, un aminoácido puede ser sustituido con un residuo de lisina con el fin de conjugar una 30 molécula asociada, como una molécula de PEG.

### Definiciones

35 Cuando se usan en el presente documento y, a menos que se indique específicamente lo contrario, los siguientes términos tienen los siguientes significados además de cualquier significado más amplio (o más estrecho) que los términos puedan disfrutar en la técnica:

A menos que el contexto requiera lo contrario, el uso del singular en el presente documento debe leerse para incluir el plural y viceversa. El término "uno" o "una" usado en relación con una entidad debe leerse para referirse a una o 40 más de esa entidad. Como tal, los términos "uno" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" se usan de manera intercambiable en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, el término "comprender" o variaciones del mismo, tales como "comprende" o "que comprende", deben leerse para indicar la inclusión de cualquier número entero enumerado (por 45 ejemplo, un rasgo característico, elemento, característica, propiedades, etapa o limitación del método/procedimiento) o grupo de números enteros (por ejemplo, rasgos característicos, elementos, características, propiedades, etapas o limitaciones del método/procedimiento) pero no la exclusión de ningún otro número entero o grupo de números enteros. Por tanto, tal como se usa en el presente documento, el término "que comprende" es inclusivo o abierto y no excluye números enteros o etapas del método/procedimiento adicionales no enumerados.

50 Tal como se usa en el presente documento, el término "enfermedad" se usa para definir cualquier estado anómalo que deteriore la función fisiológica y se asocie con síntomas específicos. El término se usa ampliamente para abarcar cualquier trastorno, enfermedad, anomalía, patología, afección, estado o síndrome en el que la función fisiológica se ve afectada independientemente de la naturaleza de la etiología (o de hecho si las bases etiológicas de la enfermedad están establecidas). Por tanto, abarca estados derivados de infección, traumatismo, lesión, cirugía, 55 ablación radiológica, envenenamiento o deficiencias nutricionales.

Tal como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" o "tratar" se refiere a una intervención (por 60 ejemplo, la administración de un agente a un sujeto) que cura, mejora o disminuye los síntomas de una enfermedad o elimina (o disminuye el impacto de) su causa(s) (por ejemplo, la reducción en la acumulación de niveles patológicos de enzimas lisosomales). En este caso, el término se usa como sinónimo del término "terapia".

Además, los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren a una intervención (por ejemplo, la administración de un 65 agente a un sujeto) que previene o retrasa la aparición o progresión de una enfermedad o reduce (o erradica) su incidencia dentro de una población tratada. En este caso, el término tratamiento se usa como sinónimo del término "profilaxis".

Tal como se usa en el presente documento, una cantidad eficaz o una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente define una cantidad que puede administrarse a un sujeto sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación excesivos, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable, pero una que sea suficiente para proporcionar el efecto deseado, por ejemplo, el tratamiento o la profilaxis manifestados por una mejora permanente o temporal en el estado del sujeto. La cantidad variará de un sujeto a otro, dependiendo de la edad y el estado general del individuo, el modo de administración y otros factores. Por tanto, aunque no es posible especificar una cantidad eficaz exacta, los expertos en la técnica podrán determinar una cantidad "eficaz" apropiada en cualquier caso individual usando experimentación de rutina y conocimientos generales de los antecedentes. Un resultado terapéutico en este contexto incluye la erradicación o la disminución de los síntomas, la reducción del dolor o la incomodidad, la supervivencia prolongada, la movilidad mejorada y otros marcadores de mejoría clínica. Un resultado terapéutico no necesita ser una cura completa.

Debe entenderse que el término "mamífero" significa un mamífero superior, especialmente un ser humano. Sin embargo, el término también incluye animales no mamíferos tales como peces.

El término "péptido" usado en el presente documento se refiere a un polímero que se compone de hasta 50 monómeros de aminoácidos normalmente a través de una unión de enlace peptídico. El péptido puede tener 3-50 aminoácidos de longitud. El péptido puede tener de 4 a 50 aminoácidos de longitud. El péptido puede tener 5-50 aminoácidos de longitud. El péptido puede tener de 7 a 50 aminoácidos de longitud. Los péptidos (incluyendo fragmentos y variantes de los mismos) de y para su uso en la invención pueden generarse total o parcialmente por síntesis química o por expresión a partir de ácido nucleico. Por ejemplo, los péptidos de y para su uso en la presente invención pueden prepararse fácilmente según métodos de síntesis peptídica en fase líquida o, preferiblemente en fase sólida bien establecidos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, J. M. Stewart y J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2ª edición, Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois (1984), en M. Bodanzsky y A. Bodanzsky, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer Verlag, Nueva York (1984)). Cuando sea necesario, cualquiera de los péptidos empleados en la invención puede modificarse de manera química para aumentar su estabilidad. Un péptido modificado de manera química o un análogo de péptido incluye cualquier equivalente químico funcional del péptido caracterizado por su estabilidad y/o eficacia aumentada *in vivo* o *in vitro* con respecto a la práctica de la invención. El término análogo de péptido también se refiere a cualquier derivado de aminoácido de un péptido tal como se describe en el presente documento. Puede producirse un análogo de péptido mediante procedimientos que incluyen, pero no se limitan a, modificaciones a las cadenas laterales, incorporación de aminoácidos no naturales y/o sus derivados durante la síntesis peptídica y el uso de agentes reticulantes y otros métodos que imponen restricción conformacional en los péptidos o sus análogos. Los ejemplos de modificaciones de la cadena lateral incluyen la modificación de grupos amino, tal como por alquilación reductora por reacción con un aldehído seguido por reducción con NaBH<sub>4</sub>; amidación con metilacetimidato; acetilación con anhídrido acético; carbamilación de grupos amino con cianato; trinitrobenzilación de grupos amino con ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS); alquilación de grupos amino con anhídrido succínico y anhídrido tetrahidroftálico; y piridoxilación de lisina con piridoxa-5'-fosfato seguido por reducción con NABH<sub>4</sub>. El grupo guanidino de residuos de arginina puede modificarse mediante la formación de productos de condensación heterocíclicos con reactivos tales como 2,3-butanodiona, fenilgloxal y gloxal. El grupo carboxilo puede modificarse mediante la activación de carbodiimida a través de la formación de o-acilisourea seguido por derivación posterior, por ejemplo, a una amida correspondiente. Los grupos sulfhidrido pueden modificarse por métodos, tales como carboximetilación con ácido yodoacético o yodoacetamida; oxidación de ácido per fórmico a ácido cisteico; formación de disulfuros mixtos con otros compuestos de tiol; reacción con maleimida; anhídrido maleico u otra maleimida sustituida; formación de derivados mercuriales usando 4-cloromercuribenzoato, ácido 4-cloromercurifenilsulfónico, cloruro de fenilmercurio, 2-cloromercuric-4-nitrofenol y otros compuestos mercuriales; carbamilación con cianato a pH alcalino. Los residuos de triptófano pueden modificarse mediante, por ejemplo, oxidación con N-bromosuccinimida o alquilación del anillo de indol con bromuro de 2-hidroxi-5-nitrobencilo o haluros de sulfonilo. Los residuos de tirosina pueden alterarse por nitración con tetranitrometano para formar un derivado de 3-nitrotirosina. La modificación del anillo de imidazol de un residuo de histidina puede lograrse mediante alquilación con derivados de ácido yodoacético o N-carbetoxilación con pirocarbonato de dietilo. Los ejemplos de incorporación de aminoácidos y derivados no naturales durante la síntesis peptídica incluyen, pero no se limitan a, el uso de norleucina, ácido 4-aminobutírico, ácido 4-amino-3-hidroxi-5-fenilpentanoico, ácido 6-aminohexanoico, t-butilglicina, norvalina, fenilglicina, ornitina, sarcosina, ácido 4-amino-3-hidroxi-6-metilheptanoico, 2-tienilalanina y/o isómeros D de aminoácidos. La modificación de la estructura peptídica incluye la generación de péptidos retro-inversos que comprenden la secuencia inversa codificada por D-aminoácidos.

"Péptido modificado": en una realización de la invención el péptido es un péptido modificado. El término péptido modificado se usa de manera intercambiable con el término derivado del péptido. El péptido modificado incluye un péptido que se ha sustituido con uno o más grupos tal como se definió en el presente documento. La modificación puede ser cualquiera modificada que proporcione los péptidos y/o la composición de la invención con una capacidad aumentada para penetrar una célula. La modificación puede ser cualquier modificación que aumenta la semivida de la composición o los péptidos de la invención. En una realización, el grupo es un grupo protector. El grupo protector puede ser un grupo protector N-terminal, un grupo protector C-terminal o un grupo protector de cadena lateral. El péptido puede tener uno o más de estos grupos protectores. El experto en la técnica conoce técnicas adecuadas

para hacer reaccionar los aminoácidos con estos grupos protectores. Estos grupos pueden añadirse mediante métodos de preparación conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos descritos en los párrafos [0104] a [0107] del documento US2014120141. Los grupos pueden permanecer en el péptido o pueden retirarse. El grupo protector puede añadirse durante la síntesis. En una realización de la invención, los péptidos pueden estar sustituidos con un grupo seleccionado de una o más cadenas lineales o ramificadas, cadenas largas o cortas, saturadas o insaturadas, sustituidas con un grupo hidroxilo, amino, amino acilo, sulfato o sulfuro o no sustituido que tiene de 1 a 29 átomos de carbono. Los derivados de N-acilo incluyen grupos acilo derivados de ácido acético, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido octanoico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido behénico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido lipoico, ácido oleico, ácido isostérico, ácido elaidoico, ácido 2-etilhexanoico, ácido graso de aceite de coco, ácido graso de sebo, ácido graso de sebo endurecido, ácido graso de palmiste, ácido graso de lanolina o ácidos similares. Estos pueden estar sustituidos o no sustituidos. Cuando están sustituidos, están preferiblemente sustituidos con hidroxilo, o grupos que contienen azufre, tales como, pero sin limitarse a,  $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{SH}$  o  $\text{S-S}$ . En una realización de la presente invención, el péptido es  $\text{R}_1\text{-X-R}_2$ .  $\text{R}_1$  y/o  $\text{R}_2$  grupos unidos respectivamente al terminal amino (terminal N) y al terminal carboxilo (terminal C) de la secuencia peptídica. En una realización, el péptido es  $\text{R}_1\text{-X}$ . Alternativamente, el péptido es  $\text{X-R}_2$ . Preferiblemente,  $\text{R}_1$  es H, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , acetilo, benzilo o trifluoroacetilo; X es el péptido de la invención;  $\text{R}_2$  es OH o  $\text{NH}_2$ . En una realización,  $\text{R}_1$  se selecciona del grupo formado por H, un grupo alifático no cíclico sustituido o no sustituido, aliciclilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, heteroarilalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, aralquilo sustituido o no sustituido, terc-butiloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc) y  $\text{R}_5\text{-CO-}$ , en el que  $\text{R}_5$  se selecciona del grupo formado por H, un grupo alifático no cíclico sustituido o no sustituido, aliciclilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, aralquilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, heteroarilalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, y aralquilo sustituido o no sustituido;  $\text{R}_2$  se selecciona del grupo formado por  $\text{-NR}_3\text{R}_4$ ,  $\text{-O}_3$  y  $\text{-SR}_3$ , en el que  $\text{R}_3$  y  $\text{R}_4$  se seleccionan independientemente del grupo formado por H, un grupo alifático no cíclico sustituido o no sustituido, aliciclilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, heteroarilalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, y aralquilo sustituido o no sustituido; y con la condición de que  $\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$  no son  $\alpha$ -aminoácidos. De acuerdo con otra realización preferida,  $\text{R}_2$  es  $\text{-NR}_3\text{R}_4$ ,  $\text{-O}_3$  o  $\text{-SR}_3$  en el que  $\text{R}_3$  y  $\text{R}_4$  se seleccionan independientemente del grupo formado por H, alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, terc-butiloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, cicloalqueno  $\text{C}_5\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, cicloalquino  $\text{C}_8\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, arilo  $\text{C}_6\text{-C}_{30}$  sustituido o no sustituido, aralquilo  $\text{C}_7\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, anillo heterociclilo sustituido o no sustituido de 3-10 miembros, y heteroarilalquilo sustituido o no sustituido de 2 a 24 átomos de carbono y 1 a 3 átomos distintos de carbono en el que la cadena alquilo es de 1 a 6 átomos de carbono. Opcionalmente,  $\text{R}_3$  y  $\text{R}_4$  pueden estar unidos por un enlace carbono-carbono saturado o insaturado, formando un ciclo con el átomo de nitrógeno. Más preferiblemente  $\text{R}_2$  es  $\text{-NR}_3\text{R}_4$  o  $\text{OR}_3$ , en el que  $\text{R}_3$  y  $\text{R}_4$  se seleccionan independientemente del grupo formado por H, alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, alqueno  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, alquino  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$  sustituido o no sustituido, cicloalquilo  $\text{C}_3\text{-C}_{10}$  sustituido o no sustituido, arilo  $\text{C}_6\text{-C}_{15}$  sustituido o no sustituido y heterociclilo sustituido o no sustituido de 3-10 miembros, heteroarilalquilo sustituido o no sustituido con un anillo de 3 a 10 miembros y una cadena de alquilo de 1 a 6 átomos de carbono. Más preferiblemente  $\text{R}_3$  y  $\text{R}_4$  se seleccionan del grupo formado por H, metilo, etilo, hexilo, dodecilo o hexadecilo. Incluso más preferiblemente  $\text{R}_3$  es H y  $\text{R}_4$  se selecciona del grupo formado por H, metilo, etilo, hexilo, dodecilo o hexadecilo. Según una realización aún más preferida,  $\text{R}_2$  se selecciona de  $\text{-OH}$  y  $\text{-NH}_2$ . Según otra realización de esta invención,  $\text{R}_1$  se selecciona del grupo formado por H, acetilo, lauroilo, miristoilo o palmitoilo, y  $\text{R}_2$  es  $\text{-NR}_3\text{R}_4$  o  $\text{OR}_3$  en el que  $\text{R}_3$  y  $\text{R}_4$  se seleccionan independientemente de H, metilo, etilo, hexilo, dodecilo y hexadecilo, preferiblemente  $\text{R}_2$  es  $\text{-OH}$  o  $\text{-NH}_2$ . Más preferiblemente,  $\text{R}_1$  es acetilo o palmitoilo y  $\text{R}_2$  es  $\text{-NH}_2$ . En una realización preferida, el grupo acilo está unido al extremo N-terminal de al menos un aminoácido del péptido. En una realización de la invención, el péptido se modifica para comprender un grupo protector de cadena lateral. El grupo protector de cadena lateral puede ser uno o más del grupo que comprende grupos bencilo o basados en bencilo, grupos basados en t-butilo, grupo benciloxicarbonilo (Z) y grupo protector aliloxicarbonilo (aloc). El grupo protector de cadena lateral puede derivarse de un aminoácido aquiral tal como la glicina aquiral. El uso de un aminoácido aquiral ayuda a estabilizar el péptido resultante y también facilita la ruta de síntesis fácil de la presente invención. Preferiblemente, el péptido comprende además un extremo C-terminal modificado, preferiblemente un extremo C-terminal amidado. El residuo acilo aquiral puede ser ácido alfa-aminoisobutírico (metilalaina). Se apreciará que los grupos protectores de cadena lateral específicos usados dependerán de la secuencia del péptido y del tipo de grupo protector N-terminal usado.

“Conjugado”: en una realización de la invención, el péptido se conjuga, une o fusiona a un reactivo de unión, por ejemplo, uno o más polímeros de polietilenglicol u otros compuestos, tales como compuestos que aumentan el peso molecular o grupos lipófilos. El compuesto que aumenta el peso molecular es cualquier compuesto que aumentará el peso molecular, normalmente del 10% al 90%, o del 20% al 50% del conjugado resultante y puede tener un peso molecular de entre 200 y 20.000, preferiblemente entre 500 y 10.000. El compuesto que aumenta el peso molecular puede ser PEG, cualquier resto polimérico, homo o copolímeros de PEG soluble en agua (anfílico o hidrófilo), un polímero monometilsustituido de PEG (mPEG) y polioxietilenglicerol (POG), poliaminoácidos como polilisina, poli(ácido glutámico), poli(ácido aspártico), en particular los de conformación L, proteínas farmacológicamente inactivas tales como albúmina, gelatina, un ácido graso, olisacárido, un aminoácido lipídico y dextrano. El resto polimérico puede ser de cadena lineal o ramificada y puede tener un peso molecular de 500 a 40000 Da, 5000 a 10000 Da, 10000 a 5000, Da. El compuesto (reactivo de unión) puede ser cualquier compuesto de penetración celular adecuado, tal como péptido tat, penetratina, pep-1. El compuesto (reactivo de unión) puede ser una molécula

de anticuerpo. El compuesto (reactivo de unión) puede ser un resto lipófilo o un resto polimérico. El sustituyente lipófilo y los sustituyentes poliméricos son conocidos en la técnica. El sustituyente lipófilo incluye un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O un átomo de S que forma parte del éster, éster sulfonílico, tioéster, amida o sulfonamida. El resto lipófilo puede incluir una cadena hidrocarbonada que tiene de 4 a 30 átomos de carbono, preferiblemente entre 8 y 12 átomos de carbono. Puede ser lineal o ramificado, saturado o insaturado. La cadena hidrocarbonada puede estar adicionalmente sustituida. Puede ser cicloalcano o heterocicloalcano. El péptido puede modificarse en el extremo N-terminal, extremo C-terminal o ambos. El polímero o compuesto (reactivo de unión) está unido preferiblemente a un grupo amino, carboxilo o tio y puede estar unido por los extremo N terminales o los extremos C terminales de las cadenas laterales de cualquier residuo de aminoácido. El polímero o compuesto (reactivo de unión) puede conjugarse con la cadena lateral de cualquier residuo adecuado. El polímero o compuesto (reactivo de unión) puede conjugarse mediante un espaciador. El espaciador puede ser un aminoácido natural o no natural, ácido succínico, lisilo, glutamilo, asparagilo, glicilo, beta-alanilo, gamma-amino butanoílo. El polímero o compuesto (reactivo de unión) puede conjugarse a través de un éster, un éster sulfonílico, un tioéster, una amida, un carbamato, una urea, una sulfonamida. Un experto en la técnica conoce los medios adecuados para preparar el conjugado descrito.

“Fragmento” significa un segmento de una proteína, normalmente seleccionadas de SEQ ID NO: 1 a 16 y 353-355, y particularmente de una región de esas proteínas seleccionadas SEQ ID NO: 17 a 70. En una realización, el fragmento tiene normalmente de 3 a 37 aminoácidos contiguos de longitud. En una realización, el fragmento tiene normalmente de 5 a 37 aminoácidos contiguos de longitud. El fragmento tiene generalmente una carga de entre -9 y +3; normalmente un aminoácido C-terminal que normalmente no es cisteína (C) o metionina (M); y normalmente un aminoácido N-terminal que normalmente no es cisteína (C), histidina (H), prolina (P) o treonina (T). La carga de un péptido, fragmento o región se determina usando el método de Cameselle, J.C., Ribeiro, J.M. y Sillero, A. (1986). Derivation and use of a fórmula to calculate the net charge of acid-base compounds. Its application to aminoacids, proteins and nucleotides. *Biochem. Educ.* 14, 131-136.

El término “natural” tal como se aplica a un péptido significa un péptido que incluye (a) un fragmento de una proteína vegetal, normalmente proteína de arroz o guisante, o variantes de proteína de guisante que incluyen lenteja, guisante dulce o garbanzo o variantes de proteína de arroz incluyendo avena, gramíneas, maíz, arroz salvaje y plátanos, o (b) una variante del fragmento de una proteína vegetal, por ejemplo, un fragmento de un homólogo de la proteína vegetal. Los péptidos o fragmentos de la invención pueden aislarse de proteínas vegetales o elaborarse de manera sintética.

“Dominio C-terminal” tal como se aplica a un fragmento significa los tres primeros aminoácidos en el extremo C-terminal del fragmento.

“Dominio N-terminal” tal como se aplica a un fragmento significa los tres últimos aminoácidos en el extremo N-terminal del fragmento.

“Bioactivo”, tal como se aplica a un péptido o fragmento, significa que tiene un efecto promotor de la salud cuando se administra a un mamífero, por ejemplo, uno o más de promotor del transporte de glucosa, promotor antibacteriano, antiinflamatorio o del crecimiento o proliferación celular. En una realización, el término “bioactivo” significa antiinflamatorio.

“Que promueve el transporte de glucosa” o “actividad promotora del transporte de glucosa” tal como se aplica a un péptido o una variante o un fragmento significa un péptido, variante o fragmento que puede aumentar la translocación de GLUT4 en el músculo esquelético en comparación con un control no tratado cuando se emplea a una concentración de 2  $\mu$ M en el siguiente ensayo *in vitro*. Las células L6-GLUT4myc se hicieron crecer en FBS al 10% y blasticidina 2  $\mu$ g/ml. Las células se hicieron crecer durante 48-72 horas antes de sembrarse en placas de 24 pocillos a 15.000 células por pocillo en FBS al 2% y se dejaron diferenciar durante de 6 a 8 días antes de la experimentación. Se privó de suero a las células L6-GLUT4myc durante tres horas antes de la incubación con 100 nM de insulina durante 30 minutos, o 200, 20, 2,0 y 0,2  $\mu$ M de SP, y 2, 1, 0,5 y 0,25 mg/ml de composición de péptidos durante 3 horas respectivamente. Se seleccionó un periodo de incubación de 3 horas basándose en hallazgos previos que identifican que la incubación con dipéptidos que contienen aminoácidos de cadena ramificada durante 3 horas aumenta la absorción de glucosa en los miotubos 1 de L6. Los tratamientos se escalonaron para determinar la translocación de GLUT4myc en el mismo punto de tiempo. La cantidad de GLUT4 marcado con myc en la superficie celular se midió mediante un ensayo colorimétrico acoplado a anticuerpos. Brevemente, después de la incubación con o bien insulina durante 30 minutos o bien péptido sintético o composición de péptidos durante 3 horas respectivamente, las células L6-GLUT4myc se fijaron mediante incubación con paraformaldehído al 3% (PFA). Luego se añadió una disolución de glicina 0,1 M para extinguir el PFA y las células se bloquearon con suero de cabra al 5%. La monocapa de miotubos se expuso al anticuerpo anti-myc y luego se incubó con anticuerpo de burro anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa. Se añadió 1 ml de reactivo de diclorhidrato de o-fenilendiamina (OPD) a cada pocillo y esta reacción se detuvo mediante la adición de 250  $\mu$ l/pocillo de HCl 3 M. Para determinar la translocación de GLUT4 a la superficie celular, se determinó espectrofotométricamente una alícuota medida de cada condición en un lector de placas usando absorbancia a 492 nm. Preferiblemente, el péptido o fragmento puede

aumentar la translocación de GLUT4 en comparación con un control no tratado en al menos un 50% (es decir, un aumento relativo de la unidad en la translocación GLUT4 del 1% al 1,5%).

5 “Antibacteriana” o “actividad antibacteriana” tal como se aplica a un péptido o fragmento significa un péptido o fragmento que puede inhibir de manera visible el crecimiento de una bacteria en el siguiente ensayo de inhibición del crecimiento basado en placa de agar: reserva de péptido = 5 mg/ml disuelto en DMSO. Los inóculos bacterianos se ajustaron a la norma McFarland 0.5 y se frotaron las placas de MHA. Se colocaron discos en blanco en las placas y se añadieron 10 µl de cada compuesto (a 64 µg/ml - concentración máxima probada). Las placas se incubaron a 37°C durante 16-18 horas. También se realizaron controles apropiados (DMSO; medios de Mueller-Hinton solos; y 10 dos discos con antibióticos: ciprofloxacina y tetraciclina).

15 “Antiinflamatorio” tal como se aplica a un péptido o fragmento significa un péptido o fragmento que puede reducir significativamente la secreción de TNF $\alpha$  por los macrófagos J774.2 estimulados por LPS (en comparación con los macrófagos J774.2 estimulados por LPS no tratados) cuando los macrófagos se tratan con 100 µM del péptido o fragmento. Los macrófagos J774.2 se trataron con 100 µM de péptido sintético durante 24 horas y luego se estimularon con (A) LPS (10 ng/ml) durante cinco horas o (B) LPS (10 ng/ml) durante 5 horas seguido de ATP (5 mM) durante una hora. Se recogió el sobrenadante y se determinaron los niveles de TNF $\alpha$  mediante ELISA.

20 “Promoción del crecimiento celular” o “promoción del crecimiento o proliferación celular” tal como se aplica a un péptido o fragmento significa un péptido o fragmento que puede aumentar la producción de elastina o la proliferación celular de la piel humana tratada con una disolución de péptido o fragmento de 20 µM en el siguiente ensayo. Los explantes de piel se prepararon a partir de cirugía plástica abdominal. Algunos explantes se sometieron a deslipidación con alcohol para obtener una piel deshidratada. Estos explantes se mantuvieron en un medio de mantenimiento suministrado por el proveedor Bioprédic International durante 5 días. Los artículos de prueba se aplican dos veces al día con 5 µl por explante. Al final de la prueba, los controles de viabilidad se realizan con el MTT en dos explantes, el tercer explante se fija en el formaldehído al 4% para histología y tinción celular. Para cada tiempo de análisis (D1 y D5), se realizan histologías en explantes sometidos a deslipidación, explantes tratados con elementos de prueba, el control de DMSO al 0,3% y control de agua. Después de la recepción en el laboratorio, cada explante de piel en el medio de mantenimiento se somete a deslipidación con 5 µl de alcohol durante 3 horas. 30 Después de 3 horas, todos los explantes de la piel se tratan dos por día con artículos de prueba, y se incuban a 37°C +/- 2°C, el 5% de CO<sub>2</sub> durante 1 día o 5 días. La integridad del sistema se realiza el día 1 y el día 5 con un control de viabilidad con MTT. La histología la realiza el laboratorio *Gredeco* y la inmunotinción a elastina y Ki67 las realiza el mismo laboratorio. La inmunotinción a filagrina se realiza en el laboratorio *Intertek*. La detección de elastina (anticuerpo monoclonal de conejo, clon P15502, LSBio) se realiza usando una técnica de inmunoperoxidasa de dos capas (kit ABC, Vector Laboratories) y revelada por AEC (3-amino-9-etilcarbazol). La intensidad de la tinción 35 inmunohistoquímica en las fibras elásticas se evalúa usando una puntuación histológica semicuantitativa. La proliferación epitelial se analizó por inmunohistoquímica usando anticuerpo anti-Ki67. La inmunodetección se realizó usando una técnica de inmunoperoxidasa indirecta de tres capas, amplificada (kit DAKO) y revelada por AEC (3-amino-9-etilcarbazol). Se realiza el recuento del número de células marcadas (queratinocitos de la capa basal de la epidermis) y se proporciona el número total de células basales para calcular el % de células marcadas. La tinción 40 específica de filagrina se realiza con una tinción de inmunoperoxidasa (kit ABC, Fisher). La intensidad del marcador inmunohistoquímico en la epidermis se evalúa en relación con el control negativo del disolvente (agua o DMSO al 0,3%).

45 “Enriquecido en péptidos que tienen un peso molecular de menos de 10 KD” tal como se aplica a una composición de la invención significa que el % en peso seco de péptidos en la composición que tiene un peso molecular de menos de 10 KD es mayor que el % en peso seco de polipéptido/proteína en la composición que tiene un peso molecular de 10 KD o mayor.

50 Debe entenderse que “homólogo” de una proteína de referencia significa una proteína de una especie diferente de planta que tiene al menos el 60% de homología de secuencia con la proteína de referencia. Por tanto, por ejemplo, los homólogos de la proteína de guisante P13918 incluyen:

55 >gi|137584|sp|P08438,1|VCL\_VICFA RecName: completa=vicilina; Etiquetas: precursor [Vicia faba]  
>gi|22057|emb|CAA68559,1|vicilina [Vicia faba var. menor] >gi|3839310311|gb|AFH56916,1| vicilina [Vicia faba]  
>gi|502105533|ref|XP\_004492829,1| PREDICHA: isoforma de tipo vicilina X1 [Cicer arietinum] Garbanzo  
>gi|29539109|emb|CAD87730,1| alérgeno Len c 1.0101 [Lens culinaris] Lenteja

60 Se considerará que una “variante” de un fragmento antiinflamatorio significa un fragmento que tiene una secuencia de aminoácidos que es sustancialmente idéntica al fragmento antiinflamatorio y que tiene actividad antiinflamatoria tal como se definió anteriormente. Así, por ejemplo, el término debe tomarse para incluir fragmentos que están alterados con respecto a uno o más residuos de aminoácidos. Preferiblemente, tales alteraciones implican la inserción, adición, delección y/o sustitución de 5 o menos aminoácidos, más preferiblemente de 4 o menos, incluso más preferiblemente de 3 o menos, lo más preferiblemente de 1 ó 2 aminoácidos solamente. Se prevé la inserción, 65 adición y sustitución con aminoácidos naturales y modificados. La variante puede tener cambios conservativos de

aminoácidos, en los que el aminoácido que se introduce es similar estructural, química o funcionalmente al que está siendo sustituido. Generalmente, la variante tendrá al menos el 70% de homología de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos el 80% de homología de secuencia, más preferiblemente al menos el 90% de homología de secuencia, e idealmente al menos el 95%, el 96%, el 97%, el 98% o el 99% de homología de secuencia con el fragmento antiinflamatorio original.

En esta memoria descriptiva, debe entenderse que el término "identidad de secuencia" comprende tanto la identidad de secuencia como la similitud, es decir, una variante (u homólogo) que comparte el 70% de identidad de secuencia con una secuencia de referencia es aquella en la que cualquier del 70% de residuos alineados de la variante (u homólogo) son sustituciones idénticas o conservativas de los residuos correspondientes en la secuencia de referencia a lo largo de toda la secuencia. La identidad de secuencia es la cantidad de caracteres que coinciden exactamente entre dos secuencias diferentes. De este modo, los espacios no se cuentan y la medición es relacional a la más corta de las dos secuencias. En términos de "homología de secuencia", debe entenderse que el término significa que una variante (u homólogo) que comparte un porcentaje definido de similitud o identidad con una secuencia de referencia cuando el porcentaje de residuos alineados de la variante (u homólogo) es idéntico a, o sustituciones conservativas de los residuos correspondientes en la secuencia de referencia y donde la variante (u homólogo) comparte la misma función que la secuencia de referencia. Esta alineación y el porcentaje de homología o identidad de secuencia se pueden determinar usando programas de software conocidos en la técnica, por ejemplo, un programa de alineación es BLAST, usando los parámetros por defecto. Los detalles de estos programas pueden encontrarse en la siguiente dirección de Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>.

Variantes de SEQ ID NO: 109 (péptido antiinflamatorio (I\_37))

Las variantes de SEQ ID NO: 109 (RGPQQYAIEWQINEK) incluyendo las variantes que tienen 1, 2 ó 3 sustituciones conservativas de aminoácidos, 1, 2 a 3 sustituciones no conservativas de aminoácidos, 1-2 adiciones de aminoácidos, 1, 2 ó 3 deleciones de aminoácidos, se proporcionan a continuación:

Una sustitución conservativa de aminoácidos:

RGPQQYAIEWQINER, RGPQQYAIEWQINDK, RGPQQFAIEWQINEK,  
 KGPQQYAIEWQINEK, RGPEQYAIEWQINEK, RGPQEYAIEWQINEK,  
 RGPQQYADWQINEK, RGPQQYAIEYQINEK (SEQ ID NO 268 a 275)

Dos sustituciones conservativas de aminoácidos:

KGPEQYAIEWQINEK, KGPQEYAIEWQINEK, KGPQQFAIEWQINEK,  
 RGPEQFAIEWQINEK, KGPQQYAIEWQINER, RGPQQYAIEWQINDR,  
 RGPQQYADWQINDK, RGPQQFAIEWQINER (SEQ ID NO 276 a 283)

Tres sustituciones conservativas de aminoácidos:

RGPQQYAIEWQVNEK, RGPQQFAIEWQINEK, KGPQQFAIEWQINER,  
 KGPQQFAIEWQVNEK, RGPQQFAIEWQVNDK, RGPQQYADWQINDR,  
 KGPQQYADWQINDK, RGPQQFADYQINEK (SEQ ID NO 284 a 291)

Una sustitución no conservativa de aminoácidos

RGPQQYARWQINEK, RGPQQYAIEWQINEE, HGPQQYAIEWQINEK,,  
 RGPYQYAIEWQINEK, RGPQQYMEWQINEK, RGPQQYAIEWCINEK,  
 RGPQPYAIEWQINEK (SEQ ID NO 292 a 298)

Dos sustituciones no conservativas de aminoácidos

RGGQQYAIEWQINED, RGPQQYARWKINEK, RGGQQYAETQINEK,  
 RGPLQYAIEWQNNEK, EGPQQYAIEWQINED, RGPQQYAIEWQINLL,  
 RGPQQGGEWQINEK (SEQ ID NO 299 a 305)

Tres sustituciones no conservativas de aminoácidos

RGPQQYAIEWQIGGG, RGPQQKYEWQINEK, RGPQAQYEWQINEK,  
 RPHQQYAIEWQINEK, RGPQHHEWQINEK, RGPPQYAPPQINEK,  
 RGPQCYEWCINEK, RGPTQYAEGQINEG (SEQ ID NO 306 a 313)

5 Una o dos adiciones de aminoácidos

RGPQQYAIEWQINEKG, RGPQQYAIEWQINEKY, RGPQQYAFTEWQINEK,  
 RGPQSQAIEWQINEKPM, RGPQQYAIEWQINEKKK, RRRRGPQQYAIEWQINEK (SEQ  
 ID NO 314 a 319).

10 El término “variante” normalmente abarca fragmentos de los péptidos de la invención. “Fragmento de un péptido de la invención” o “fragmento de péptido” significa un fragmento de uno de los péptidos de la invención que tiene al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 ó 22 aminoácidos y que normalmente tiene una bioactividad, por ejemplo, actividad antiinflamatoria, actividad de crecimiento celular o de promoción de la proliferación, actividad promotora del transporte de glucosa o actividad antibacteriana. En una realización, el fragmento consiste en al menos el 30%, el 40%, 50%, el 60%, el 70%, el 80% o el 90% de la secuencia de  
 15 referencia. Se proporcionan ejemplos de fragmentos de la invención en las SEQ ID NO 320-330.

RGPQQYAIEWQINE, RGPQQYAIEWQIN, RGPQQYAIEWQI, GPQQYAIEWQINEK,  
 PQQYAIEWQINEK, QQYAIEWQINEK, QQYAIEWQI, PQQYAIEWQINE, PQQYAIEWQIN,  
 RGPQQYA, EWQINEK (SEQ ID NO 320 a 330)

20 “Trastorno inflamatorio” significa un estado inflamatorio inmunomediado que afecta a los seres humanos y se caracteriza generalmente por la expresión desregulada de una o más citocinas. Los ejemplos de trastornos inflamatorios incluyen trastornos inflamatorios de la piel, trastornos inflamatorios de las articulaciones, trastornos inflamatorios del aparato cardiovascular, determinadas enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios de los pulmones y de las vías respiratorias, trastornos inflamatorios intestinales. Los ejemplos de trastornos inflamatorios de la piel incluyen dermatitis, por ejemplo, dermatitis atópica y dermatitis de contacto, acné vulgar y psoriasis. Los ejemplos de trastornos inflamatorios de las articulaciones incluyen artritis reumatoide. Los ejemplos de trastornos inflamatorios del aparato cardiovascular son las enfermedades cardiovasculares y la aterosclerosis. Los ejemplos de enfermedades autoinmunitarias incluyen diabetes tipo 1, enfermedad de Graves, enfermedad de Guillain-Barré, lupus, artritis psoriásica y colitis ulcerosa. Los ejemplos de trastornos inflamatorios de los pulmones y las vías respiratorias incluyen asma, fibrosis quística, EPOC, enfisema y síndrome de dificultad respiratoria aguda.  
 25 Los ejemplos de trastornos inflamatorios intestinales incluyen colitis y enteropatía inflamatoria. Otros trastornos inflamatorios incluyen cáncer, rinitis alérgica, periodontitis, alergias, hipersensibilidad, isquemia, depresión, enfermedades sistémicas, inflamación posterior a la infección y bronquitis.

35 En esta memoria descriptiva, debe entenderse que el término “trastorno metabólico” debe entenderse que incluye prediabetes, diabetes; diabetes tipo 1; diabetes tipo 2; síndrome metabólico; obesidad; dislipidemia diabética; hiperlipidemia; hipertensión; hipertrigliceridemia; hiperacidemia grasas; hipercolesterolemia; hiperinsulinemia y MODY (por sus siglas en inglés, *maturity-onset diabetes of the young*).

40 “Elaborado por el hombre”, tal como se aplica a los productos comestibles, debe entenderse que significa elaborado por un ser humano y que no existe en la naturaleza.

45 “Mantener o restaurar la salud intestinal”: significa reducir y/o regular la respuesta proinflamatoria en el intestino y más específicamente en las células epiteliales. El microbioma sano ofrece alguna protección contra virus y bacterias patógenos, y su presencia es necesaria para guiar el desarrollo de nuestro sistema inmunitario. Se ha demostrado que estas bacterias pueden reaccionar a las señales humanas de estrés, enfermedad o edad que pueden manifestarse por inflamación y, como consecuencia, activar sus genes de virulencia y provocar o contribuir a la enfermedad. Tener la capacidad de reducir y mantener en niveles saludables la respuesta inflamatoria puede ayudar a mantener las bacterias saludables. Los problemas digestivos, que comprenden el problema de salud número uno en América del Norte, parecen ocurrir con más frecuencia en los últimos años. Una manera de mantener la salud  
 50 digestiva es mantener una inflamación adecuada y la microbiota intestinal.

“Mantener o restaurar la salud muscular” significa ayudar a retener o restaurar la salud muscular de los mamíferos como resultado del daño sufrido durante el ejercicio. Al reducir la inflamación, los péptidos promueven la recuperación de las lesiones durante el ejercicio y alivian la inflamación/dolor muscular y las lesiones relacionadas

con el ejercicio. También pueden usarse para disminuir y prevenir los calambres musculares, y para permitir una recuperación más rápida de los calambres musculares. Los calambres pueden ser consecuencia del estrés físico, el estrés mental o el estrés por lesiones por esfuerzo repetitivo. Al reducir la inflamación, los péptidos ayudan a reducir la miopatía del músculo y ayudan a prevenir la sarcopenia en los mamíferos, promueven la recuperación de las lesiones durante el ejercicio y alivian la inflamación/dolor muscular y las lesiones relacionadas con el ejercicio. También pueden usarse para disminuir y prevenir los calambres musculares, y para permitir una recuperación más rápida de los calambres musculares. Los calambres pueden ser consecuencia del estrés físico, el estrés mental o el estrés por lesiones por esfuerzo repetitivo. Al reducir la inflamación, los péptidos ayudan a reducir la miopatía del músculo y ayudan a prevenir la sarcopenia en los mamíferos.

En esta memoria descriptiva, el término "composición" debe entenderse que significa algo elaborado por la mano del hombre, y no excluye las composiciones que se producen de manera natural. Las composiciones a modo de ejemplo incluyen alimentos, bebidas, complementos nutricionales, composiciones de cuidado personal y composiciones farmacéuticas.

En esta memoria descriptiva, el término "sustancialmente todos", tal como se aplica a una lista de péptidos o fragmentos, debe entenderse que significa al menos el 60%, el 70%, el 80%, el 90% o el 95% de los péptidos o fragmentos.

En esta memoria descriptiva, el término "composición de cuidado personal" debe entenderse como una composición formulada para su uso en seres humanos en la limpieza o el tratamiento del cuerpo humano, particularmente la piel, dientes, uñas, pies y cabello. Los ejemplos incluyen champú, suavizante, cremas y lociones para la piel, polvos, dentífrico, gel o cremas de ducha, loción corporal, desodorante y antitranspirante.

En esta memoria descriptiva, el término "complemento nutricional" debe entenderse como un producto formulado para la ingestión por un mamífero y destinado a conferir un beneficio para la salud al receptor. El complemento puede tomar cualquier forma, por ejemplo, sólido, líquido o en polvo. Los ejemplos de complementos incluyen polvos, comprimidos, cápsulas y bebidas.

### Breve descripción de las figuras

Figuras 1 a 18: *El efecto de dieciocho péptidos sintéticos de la invención sobre la secreción de TNF- en células THP1*. Todos los experimentos se prepararon por duplicado en tres placas (6 pocillos/condición). La significación se calculó usando la prueba de la t de Student (\* $p < 0,05$  en comparación con el control, \*\* $p < 0,01$  en comparación con el control, \*\*\* $p < 0,001$  en comparación con el control)

Figura 19. *Viabilidad de los macrófagos J774.2 después del tratamiento con péptidos sintéticos*. Los macrófagos J774.2 se trataron con 100  $\mu\text{M}$  de péptido sintético durante 24 horas antes de que se realizara un ensayo de azul de alamar. Los datos se presentan como un promedio de  $n = 3 \pm$  EEM.

Figura 20. *Los efectos de las composiciones de péptidos sobre la supervivencia celular*. Los macrófagos J774.2 se trataron con (A) 1 mg/ml o (B) 0,5 mg/ml de composiciones de péptidos durante 24 horas antes de que se realizara un ensayo de azul de alamar. Los datos se muestran como (A)  $n = 1 \pm$  EEM y (B)  $n = 3 \pm$  EEM.

Figura 21. *El efecto del vehículo DMSO sobre la secreción de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  de los macrófagos J774.2*. Los macrófagos J774.2 se trataron con una concentración final del 0,3% y DMSO al 1% (equivalente a las cantidades usadas para disolver los péptidos) durante 24 horas y se estableció el efecto sobre TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  después de la estimulación. Los datos se presentan como un promedio de  $n = 3 \pm$  EEM. (\*\*\* $p < 0,001$  con respecto a LPS).

Figura 22. *El efecto de seis péptidos de la invención sobre la secreción de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  de los macrófagos J774.2*. Los macrófagos J774.2 se trataron con 100  $\mu\text{M}$  de péptido sintético durante 24 horas y luego se estimularon con (A) LPS (10 ng/ml) durante cinco horas o (B) LPS (10 ng/ml) durante 5 horas seguido por ATP (5 mM) durante una hora. Se recogió el sobrenadante y los niveles de (A) TNF $\alpha$  y (B) IL-1 $\beta$  se determinaron mediante ELISA. (\*\*\* $p < 0,001$  con respecto a LPS, \*\* $p < 0,01$  con respecto a LPS, \* $p < 0,05$ , ### $p < 0,001$  con respecto a LPS/ATP, ## $p < 0,01$  con respecto a LPS/ATP y # $p < 0,05$  con respecto a LPS/ATP). Concentración final de DMSO en el pocillo: SP1 - 0,3%, SP2 - 0%, SP3 - 0,3%, SP4 - 1%, SP5 - 1%, SP6 - 0,3%, Control positivo - 0%. Los datos se presentan como un promedio de  $n = 3 \pm$  EEM.

Figura 23. *El efecto de una composición de péptidos de la invención sobre la secreción de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$* . Los macrófagos J774.2 se trataron con 0,5 mg/ml de composición de péptidos durante 24 horas y luego se estimularon con (A) LPS (10 ng/ml) durante cinco horas o (B) LPS (10 ng/ml) durante 5 horas seguido por ATP (5 mM) durante una hora. Se recogió el sobrenadante y se determinaron los niveles de (A) TNF $\alpha$  y (B) IL-1 $\beta$  mediante ELISA. (\*\*\* $p < 0,001$  con respecto a sin tratar + LPS, #### $p < 0,001$  con respecto a sin tratar + LPS/ATP). Los datos se presentan como un promedio de  $n = 3 \pm$  EEM.

Figura 24. *Los efectos de los péptidos sintéticos con vehículo DMSO sobre TNF $\alpha$* . Los macrófagos J774.2 se trataron con 100  $\mu$ M de péptido sintético durante 24 horas y luego con LPS (10 ng/ml) durante cinco horas. Se recogió el sobrenadante y se determinaron los niveles de TNF $\alpha$  mediante ELISA. ###p<0,001 con respecto a DMSO al 0,3% + LPS, ##p<0,01 con respecto a DMSO al 0,3% + LPS, +++p<0,001 con respecto a DMSO al 1% + LPS, ++p<0,01 con respecto a DMSO al 1% + LPS/ATP). Concentración final de DMSO en el pocillo: control positivo - 0%, SP1 - 0,3%, SP2 - 0%, SP3 - 0,3%, SP4 - 1%, SP5 - 1%, SP6 - 0,3%.

Figura 25. Los macrófagos diferenciados con THP-1 tratados con una composición de péptidos de arroz de la invención (I\_2\_HR) durante 24 horas antes de la estimulación con LPS se compararon con las células no tratadas. La secreción de TNF- $\alpha$  en las células tratadas con I\_2\_HR se reduce en un 92% frente a las células no tratadas. Se observan resultados significativos a concentraciones de 100 ug/ml y 500 ug/ml de I\_2\_HR, lo que indica la potencia de I\_2\_HR.

Figuras 26 a 28. El efecto de tres péptidos sintéticos de la invención sobre la secreción de TNF- en células THP1. Todos los experimentos se prepararon por duplicado en tres placas (6 pocillos/condición). La significación se calculó usando la prueba de la t de Student (\*p<0,05 en comparación con el control, \*\*p<0,01 en comparación con el control, \*\*\*p<0,001 en comparación con el control)

### Descripción detallada de la invención

#### Ejemplo 1 – Respuesta inflamatoria

Los macrófagos secretan TNF- $\alpha$  en respuesta a la estimulación por endotoxinas tales como los lipopolisacáridos (LPS). Se cree que TNF- $\alpha$  está implicado en la inflamación sistémica y se cree que la desregulación de la producción de TNF- $\alpha$  está implicada en muchas enfermedades. El ensayo Biolegend es un kit ELISA tipo sándwich diseñado para la cuantificación precisa de TNF- $\alpha$  humano a partir de sobrenadante de cultivo celular, suero o plasma.

Se sembraron los monocitos THP-1 en una placa de 96 pocillos a 10.000 células por pocillo en RPMI que contenía suero bovino fetal al 10% (SBF), pen./estrep. al 1%, L-glutamina al 1%, PMA 100 nM y se les permitió diferenciarse durante 72 h antes de la experimentación.

Tras la diferenciación, se incubaron con las células péptido sintético 100 ng/ml, 10 ng/ml o 1 ng/ml durante 24 h respectivamente.

Tras el tratamiento, se estimularon las células con LPS 10 ng/ml durante 5 h y se determinó la cantidad de TNF- $\alpha$  en el sobrenadante usando el kit de ensayo ELISA de Biolegend.

Los resultados se calcularon como un porcentaje del control no tratado. Un aumento en la lectura de densidad óptica indica una mayor cantidad de liberación de TNF- $\alpha$  en el sobrenadante del cultivo celular.

Los resultados se proporcionan en las figuras 1 a 21 y se resumen en la tabla 1 a continuación. Todos los experimentos se prepararon por duplicado en tres placas (6 pocillos/condición). La significación se calculó usando la prueba de la t de Student (\*p<0,05 en comparación con el control, \*\*p<0,01 en comparación con el control, \*\*\*p<0,001 en comparación con el control).

Tabla 1

NÚMERO DE FIGURA	SEQ ID	DISMINUCIÓN DE TNF- $\alpha$
FIGURA 1	339	26%
FIGURA 2	352	23%
FIGURA 3	341	21%
FIGURA 4	351	18%
FIGURA 5	144	16%
FIGURA 6	93	14%
FIGURA 7	320	13%
FIGURA 8	92	13%
FIGURA 9	75	11%
FIGURA 10	76	9%

FIGURA 11	349	6%
FIGURA 12	350	
FIGURA 13	105	9%
FIGURA 14	177	
FIGURA 15	345	23%
FIGURA 16	353	20%
FIGURA 17	344	20%
FIGURA 18	346	18%
FIGURA 26	85	80%
FIGURA 27	91	80%
FIGURA 28	420	80%

#### Ejemplo 2 - Respuesta inflamatoria

5 Se determinó el efecto de seis péptidos sintéticos de la invención, SP1 a SP6 (SEQ ID NO: 108, 109, 110, 111, 85 y 91) y cuatro composiciones de péptidos sobre la respuesta inflamatoria *in vitro* usando una línea celular.

10 La composición de péptidos I\_1\_HR (arroz) contenía los siguientes péptidos (identificados por SEQ ID): 116, 197, 207, 112, 211, 158, 201, 203, 114, 183, 130, 113, 182, 167, 166, 152, 220, 213, 215, 154, 219, 218, 165, 123, 185, 190, 209, 181, 198, 200, 147, 172, 184, 124, 153, 205, 115, 196, 151, 161, 160, 216, 210, 208, 146, 133, 204, 212, 206.

15 La composición de péptidos 1\_2\_HR (arroz) contenía los siguientes péptidos (identificados por SEQ ID): 189, 177, 174, 129, 176, 202, 193, 195, 194, 192, 182, 128, 220, 127, 134, 136, 135, 180, 179, 178, 219, 218, 145, 120, 175, 190, 149, 126, 187, 191, 121, 122, 159, 132, 162, 137, 150, 186, 188, 164, 118, 125, 163, 157, 156, 117.

La composición de péptidos E\_1\_HR (guisante) contenía los siguientes péptidos (identificados por SEQ ID): 74, 76, 106, 102, 101, 100, 92, 96, 83, 89, 90, 104, 82, 75, 79, 78, 77, 99, 103, 72, 86, 105, 94, 93, 81, 97, 80, 88, 85, 87, 71, 107, 73, 84, 98, 95.

20 La composición de péptidos E\_2\_HR contenía homólogos de los péptidos de la invención.

25 Se trató una línea celular de macrófagos de ratón J774.2 con 100  $\mu$ M de cada péptido sintético (SP) y 0,5 mg/ml de cada composición de péptidos y se determinó el efecto sobre dos marcadores proinflamatorios: factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) e interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) después de inducir la inflamación usando lipopolisacárido (LPS) como estímulo inflamatorio. Se usó un Anova de una vía con la prueba de Dunnett, que es una comparación múltiple y compara cada media con una sola media de control.

#### Ejemplo 3 – Péptidos sintéticos: viabilidad celular

30 En primer lugar, se diluyeron los péptidos sintéticos en un disolvente adecuado. El dimetilsulfóxido (DMSO) fue el disolvente de elección para péptidos con mala solubilidad en agua prevista. Concentración final de DMSO en cada pocillo: SP1 (1\_155\_HR) – 0,3%, SP2 (1\_374\_HR) - 0%, SP3 (E\_155\_HR) – 0,3%, SP4 (E\_54\_HR) - 1%, SP5 (E\_41\_HR) - 1%, SP6 (E\_788\_HR) – 0,3%, Control positivo - 0%. En primer lugar, se trataron las células con 100  $\mu$ M de cada SP durante 24 horas antes de que se realizara un ensayo de azul de alamar. No se observaron problemas de viabilidad con ninguno de los péptidos.

#### Ejemplo 4 - Composiciones de péptidos: preparación y toxicidad

40 Se prepararon las composiciones de péptidos ajustando el pH a entre 6 y 7 y filtrado estéril. Se determinaron los efectos de las composiciones de péptidos sobre la viabilidad celular. Se trataron los macrófagos J774.2 con 1 mg/ml y 0,5 mg/ml de cada composición de péptidos, peróxido de hidrógeno para inducir la muerte celular como control positivo, y un péptido conocido por ser no tóxico como control negativo. Luego se realizó un ensayo de azul de alamar y la supervivencia celular se muestra en la figura 19 como un porcentaje de no tratadas (100%). Como la supervivencia celular se vio comprometida con 1 mg/ml de péptido, se usaron 0,5 mg/ml de composición de péptido para ensayos adicionales.

#### Ejemplo 5 – Marcadores inflamatorios

Se determinó el efecto del DMSO sobre la secreción de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . El DMSO al 1% aumentó significativamente

los niveles de TNF $\alpha$  (figura 3A. \*\*\*p<0.001 con respecto a LPS) y esto se tuvo en cuenta cuando se analizó el efecto de los péptidos sobre TNF $\alpha$ . No se observó ningún efecto significativo con respecto a DMSO y la secreción de IL-1 $\beta$ .

Ejemplo 6 – Respuesta inflamatoria

5 Se trataron los macrófagos diferenciados con THP-1 con una composición de péptidos de arroz de la invención (I\_2\_HR) durante 24 horas antes de la estimulación con LPS, se compararon con las células no tratadas. La secreción de TNF- $\alpha$  en las células tratadas con I\_2\_HR se reduce en un 92% frente a las células no tratadas. Se observan resultados significativos a concentraciones de 100 ug/ml y 500 ug/ml de I\_2\_HR, lo que indica la potencia de I\_2\_HR.

PROTEÍNA DE GUISANTE 1: P13918-1 -  
 MAATTMKASFPLLMLMGISFLASVCVSSRSDPQNPFIFKSNKFQTLFENENGHIRLLQKFDQRSKIFENLQNYRLLLEYKSKPHTIFLPQHTDA  
 DYILVVLSGKAILTVLKPDDRNSFNLERGDTIKLPAGTIAYLVNRDDNEELRVLDLAIPVNRPGQLQSFLLSGNQNNQNYLSGFSKNILEASFN  
 TDYEEIEKVLLEEHEKETQHRRSLKDKRQSQEENVIVKLSRGQIEELSKNAKSTSKKSVSSESEPFNLSRGPIYSNEFGKFFEITPEKNPQLQ  
 DLDIFVNSVEIEGSLLLPHYNSRAIVITVNEGKGFELVQQRNENQEQQRKEDDEEEEQGEEEINKQVQNYKAKLSSGDVFPVAGHPVA  
 VKASSNLDLLGFGINAENNRNFLAGDEDNVISQIQRPVKELAFPGSAQEVDRILENQKQSHFADAQPQQRERGRSRETRDRLSSV [SEQ  
 ID 1]

**Información de secuencia**

15

REGIÓN :	253 a 274 - PFNLSRGPIYSNEFGKFFEIT [SEQ ID 17]
	PÉPTIDO : SRGPIYSNEFGK [SEQ ID 71]
REGIÓN :	110 a 126 - KPDDRNSFNLERGDTIK [SEQ ID 18]
	PÉPTIDO : NSFNLER [SEQ ID 72]
REGIÓN :	134 a 160 - ILVNRDDNEELRVLDLAIPVNRPGQLQ [SEQ ID 19]
	PÉPTIDO : VLDLAIPVNR [SEQ ID 73]
	PÉPTIDO : DDNEELR [SEQ ID 74]
REGIÓN :	331 a 381 - QEQRKEDDEEEEQGEEEINKQVQNYKAKLSSGDVFPVAGHPVAVKASSNL [SEQ ID 20]
	PÉPTIDO : LSSGDVFPVAGHPVAVK [SEQ ID 75]
	PÉPTIDO : EDDEEEEQGEEEINK [SEQ ID 76]
REGIÓN :	175 a 242 - SGFSKNILEASFNTDYEEIEKVLLEEHEKETQHRRSLKDKRQSQEENVIVKLSRGQIEELSKNAKST [SEQ ID 21]
	PÉPTIDO : NILEASFNTDYEEIEKVLLEEHEKETQHR [SEQ ID 77]
	PÉPTIDO : NILEASFNTDYEEIEKVLLEEHEK [SEQ ID 78]
	PÉPTIDO : NILEASFNTDYEEIEK [SEQ ID 79]
	PÉPTIDO : RQQSQEENVIVK [SEQ ID 80]
	PÉPTIDO : QSQEENVIVK [SEQ ID 81]
	PÉPTIDO : LSRGQIEELSK [SEQ ID 82]
	PÉPTIDO : GQIEELSK [SEQ ID 83]
	PÉPTIDO : VLLEEHEK [SEQ ID 84]
REGIÓN :	35 a 108 - PFIFKSNKFQTLFENENGHIRLLQKFDQRSKIFENLQNYRLLLEYKSKPHTIFLPQHTDADYILVVLVLSGK [SEQ ID 22]
	PÉPTIDO : SKPHTIFLPQHTDADYILVVLVLSGK [SEQ ID 85]
	PÉPTIDO : PHTIFLPQHTDADYILVVLVLSGK [SEQ ID 86]
	PÉPTIDO : SNKFQTLFENENGHIR [SEQ ID 87]
	PÉPTIDO : SKIFENLQNYR [SEQ ID 88]
	PÉPTIDO : IFENLQNYR [SEQ ID 89]
REGIÓN :	423 a 450 - QEVDRILENQKQSHFADAQPQQRERGRS [SEQ ID 23]

	PÉPTIDO : ILENQKQSHFADAQPQR [SEQ ID 90]
	PÉPTIDO PGQLQSFLLSGNQNNILSGFSK [SEQ ID 91]
<b>PROTEÍNA DE GUISANTE 2: P02856 - 2 -</b> DRRQELSNENVLVKVSRRQLEELSKNAKSSRRSVSSESGPFNLRSSEDPVLYSNNQKFFELTPEKNQQLQDLDFVNSVDLKEGSLLLPNYNS RALLVLLVNVNEGKDFELVGQRNENQKGEN [SEQ ID 2]	
REGIÓN :	53 a 87 - NNSGKFFELTPEKNQQLQDLDFVNSVDLKEGSL [SEQ ID 24]
	PÉPTIDO : FFELTPEKNQQLQDLDFVNSVDL [SEQ ID 92]
REGIÓN :	14 a 30 - KVSRRQLEELSKNAKSS [SEQ ID 25]
	PÉPTIDO : QLEELSK [SEQ ID 93]
<b>PROTEÍNA DE GUISANTE 3: P15838 - 3 -</b> MATKLLALSLSFCFLLLGGCFALREQPEQNECQLERLNALEPDNRIESEGGLIETWPNPNKQFRCAVALSRATLQHNALRRPYYSNAPQEI FIQQNGYFGMVFPGPCPETFEPEQEQEGEGRRYDRHQVNRFRREGDIIAVPTGIVFWMYNDQDTPVIAVSLTDIRSSNNQLDQMPPRR FYLAGNHEQFLRYQHQQGGKQEQENEGNNIFSGFKRDFLEDAFNVNRHIVDRLOGRNEDEEKGAIVKVGGLSIISPPEKQARHQGRSR QEEDEDEEERQPRHQGRSRQEEEEDEEERQPRHQRRRGEEDKERRGSKGKSRQGDNGLEETVCTAKLRLNIGPSSSPDIYNPE AGRIKVTSLDPLVLRWLKLSAEHGLKNAFMVPHYNLNANSIYALKGRARLQVNCNGNTVFDGELEAGRALTVPQNYAVAASLSLSD RFSYVAFKTNDRAGIARLAGTSSVINPLDVVAATFNLRNEARQLKSNPFKFLVPAQSEN RASA [SEQ ID 3]	
REGIÓN :	267 a 287 - QRGSRQEEDEDEEERQPRHQ [SEQ ID 26]
	PÉPTIDO : QEEDEDEEER [SEQ ID 94]
REGIÓN :	190 a 222 - QEFLRYQHQQGGKQEQENEGNNIFSGFKRDFLE [SEQ ID 27]
	PÉPTIDO : YQHQQGGKQEQENEGNNIFSGFK [SEQ ID 95]
<b>PROTEÍNA DE GUISANTE 4: Q9M3X6 - 4 -</b> MATTIKSRFPLLLLIIFLASVVCVYANYDEGSEPRVPAQRERGRQEGEKEEKRHGEWRPSYEKEDEEEGQREGRQEGEKEEKRHGE WRPSYEKQDEEEKQKYRYQREKEDEEEKQYQYQREKKEQKEVQPGRRERWEREEDEEQVDEEWGRSQRRREDPEERARLRHREERTKR DRRHQREGEEERSESQERRNPFLFKSNKFLTLFENENGHIRLLQRFDRKSDLFENLQNYRLVEYRAKPHITFLPQHIDADLILVLSGKAIT VLSPNDRNSYNLERGDTIKLPAGTTSYLVNQDDEEDLRLVDLVPVNGPGKFEAFDLAKNKNQYLRGFSKNILEASYNTRYETIEKVLLLEEQ KDRKRRQQGEETDAIVKVSREQIEELKKLAKSSSKSLPSEFEPINLRSHKPEYSNKFGLFEITPEKKYPQLQDLDFVSCVEINEGALMLPHY NSRAIVLLVNEGKGNLELLGLKNEQEREDRKERNNEVQRYEARLSPGDVVIIPAGHPVAITASSNLNLLGFGINAENNERNFLSGSDDNV ISQIENPVKELTFPGSVQEIINRLIKNQKQSHFANAPEQKEQGSQGRSPLSILGTFY [SEQ ID 4]	
REGIÓN :	284 a 317 - YNLERGDTIKLPAGTTSILVNQDDEEDLRLVDLV [SEQ ID 28]
REGIÓN :	PÉPTIDO : GDTIKLPAGTTSILVNQDDEEDLR [SEQ ID 96] 321 to 400 -
NPGPKFEAFDLAKNKNQILRGFSKNILEASYNTRYETIEKVLLLEEQEKDRKRRQQGEETDAIVKVSREQIE ELKKLAKSS [SEQ ID 29]	
	PÉPTIDO : RQQGEETDAIVK [SEQ ID 97]
	PÉPTIDO : VLLEEQEKDRK [SEQ ID 98]
	PÉPTIDO : NILEASYNTR [SEQ ID 99]
	PÉPTIDO : FEAFDLAK [SEQ ID 100]
	PÉPTIDO : EQIEELKK [SEQ ID 101]
	PÉPTIDO : EQIEELK [SEQ ID 102]
	PÉPTIDO : NKNQILR [SEQ ID 103]
REGIÓN :	503 a 549 - RYEARLSPGDVVIIPAGHPVAITASSNLNLLGFGINAENNERNFLSG [SEQ ID 30]
	PÉPTIDO : LSPGDVVIIPAGHPVAITASSNLNLLGFGINAENNER [SEQ ID 104]
REGIÓN :	89 a 112 - HGEWRPSYEKQDEEEKQKYRYQR [SEQ ID 31]
	PÉPTIDO : PSYEKQDEEEKQK [SEQ ID 105]
REGIÓN :	62 a 80 - PSYEKEDEEEGQREGRQ [SEQ ID 32]
	PÉPTIDO : EEEDEEGQR [SEQ ID 106]
<b>PROTEÍNA DE GUISANTE 5: D3VNE1 - 5 -</b> MAATPIKPLMLLAIFLASVVCVSSRSQDENPFIFKSNRFQTLYENENGHIRLLQKFDKRSKIFENLQNYRLLEYKSKPRTLFLPQYTDADFILVV LSGKATLTVLKSNDNRNLFERGDITIKLPAGTIAYLANRDDNEDLRLDLTIPVKNPGQLQSFLSGTQNPQSLLSGFSKNILEAAFNTNYEEI EKVLLEQQEQEPQHRRSLKDRRQEIENENVIVKVSREQIEELSKNAKSSSKSVSSESGPFNLRSRNPISYKFGKFFELTPEKNQQLQDLDF VNSVDIKEGSLLLPNYNSRAIVIVTTEGKDFELVGQRNENQKGENDKKEEQEETSQVQLYRAKLSPGDVVFIIPAGHPVAITASSNLNLL GFGINAENNERNFLAGEEDNVISQVERPVKELAFPGSSHEVDRLLKNQKQSYFANAQPLQRE [SEQ ID 5]	

REGIÓN :	75 a 104 - KSKPRTLFLPQYTDADFILVVLSGKATLV [SEQ ID 33]
	PÉPTIDO : TLFLPQYTDADFILVVLSGK [SEQ ID 107]
	<p>PROTEÍNA DE ARROZ 7: Q6K508</p> <p>MATTTSLSSCLCALLLAPLFSQGVDAWESRQGASRQCRFDRLQAFEPLRKRVRSEAGDTE  YFDERNEQFRCAGVFVIRRVIEPQGLVVPVRYSNTPALAYIIQKGGYVGLTFPGCPATHQQ  QFQLFEQRQSDQAHKFRDEHQIHEFRQGDVVALPASVAHWFYNGGDTPAVVVVYDIKS  FANQLEPRQKEFLAGNQRGQQIFEHSIFQHSGQNFSGFNTEVLSEALGINTEASKRL  QSQNDQRGDIIRVKHGLQLLKPTLTQRQEEHRQYQVQYREGQYNGLDENFCTIKARVNI  ENPSRADYYNPRAGRITLNNQKFPILNLIGMGAARVNLYQNALLSPFWNINAHSVVYII  QGSVVRQVANNGRVSFNGVLHQGLLIIPQNHAVIKKAEHNGCQYVAIKTISDPTVSWV  AGKNSILRALPVDVIANAYRISRDEARRLKNRADEIGPFTPRFPQKSQRQYQFLTEGLS  LIGM [SEQ ID 6]</p>
	PÉPTIDO: GYVGLTFPGCPATHQQQFQLFEQR [SEQ ID 108]
	<p>PROTEÍNA DE ARROZ 8: Q6K7K6</p> <p>MASMSLILPLCLGILLFFQVSMQAFSFGGSPQSPRGFRGDQDSRHQCRFEHLTAEATH  QQRSEAGFTEYYNIEARNEFRAGVSVRRLLVVEKGLVLPMYANAHKLVYIVQGRGVFGM  ALPGCPETFQSVRSPFEQEVATAGEAQSSIQKMRDEHQQLHQFHQGDVIAVPAGVAHWLY  NNGDSPVVAFTVIDTSSNANQLDPRRREFFLAGKPRSSWQQSYSYQTEQLSRNQNFAG  FSPDLLSEALSVSQKQTVLRLQLGSDPRGAIIRVENGLQALQPSLQVEPVKKEEQTQAYLPT  KQLQPTWLRSGGACGQNVLDEIMCAFRLRKNIDNPQSSDIFNPHGGRITRANSQNFIL  NIIQMSATRIVLQNNALLTPHWTVNAHTVMYVTAGQGHIQVVDHRGRSVFDGELHQQIL  LIPQNFVAVVVKARREGFAVVSFKTNHNAVDSQIAGKASILRALPVDVIANAYRISREDSR  HVKNRQDEMAVFAPRRGPQQAWEWQINEK [SEQ ID 7]</p>
	PÉPTIDO: RGPQQAWEWQINEK [SEQ ID 109]
	<p>PROTEINA DE GUISANTE 6: P13919</p> <p>MATTIKSRFPLLLLLGIIFLASVSVTYANYDEGSEPRVPAQRERGRQEGEKEEKRHGEW  RPSYEKEEDEEGQRERGRQEGEKEEKRHGEWGPSYEKQDEEEKQKYRYQREKEDEEEK  QKYQYQREKKEQKEVQPGRERWEREEDEEQVDEEWGRSQRREDPEERARLRHREERTKRD  RRHQREGEEERSSSQERRNPFLFKSNKFLTLFENENGHIRLLQRFDKRSDLFENLQNY  RLVEYRAKPHITIFLPQHIDADLILVLSGKAILTVLSPNDRNSYNLERGDTIKLPAGTTS  YLVNQDDEEDLRLVDLIPVNGPGKFEAFDLAKNKNQYLRGFSKNILEASYNTRYETIEK  VLLEEQEKDRKRRQGEETDAIVKVS [SEQ ID 8]</p>
	PÉPTIDO: LVDLVIPVNGPGKFEAFDLAK [SEQ ID 110]
	<p>PROTEÍNA DE GUISANTE 7: P02855</p> <p>MATTIKSRFPLLLLLGIIFLASVSVTYANYDEGSEPRVPAQRERGRQEGEKEEKRHGEW  RPSYEKEEDEEGQRERGRQEGEKEEKRHGEWGPSYEKQDEEEKQKYRYQREKEDEEEK  QKYQYQREKKEQKEVQPGRERWEREEDEEQVDEEWGRSQRREDPEERARLRHREERTKRD  RRHQREGEEERSSSQERRNPFLFKSNKFLTLFENENGHIRLLQRFDKRSDLFENLQNY  RLVEYRAKPHITIFLPQHIDADLILVLSGKAILTVLSPNDRNSYNLERGDTIKLPAGTTS  YLVNQDDEEDLRLVDLIPVNGPGKFEAFDLAKNKNQYLRGFSKNILEASYNTRYETIEK  VLLEEQEKDRKRRQGEETDAIVKVS [SEQ ID 9]</p>
	PÉPTIDO: KNPQLQDLDFVNYVEIK [SEQ ID 111]
	<p>PROTEINA DE ARROZ 1: P14323 - 1 -</p> <p>MASSVFSRFSIYFCVLLCHGSMALFNPNSTNPWHSRQGSFRECDFRLQAFEPLRKRVRSEAGVTEYFDEKNELFQCTGTFVIRRVIQPQG  LLVPRYTNIPIGVVYIIQGRGSMGLTFPGCPATYQQFQFSSQGSQSQKFRDEHQIHFQFRQGDIVALPAGVAHWFYNDGDAPIVAVY  VYDVNNANQLEPRQKEFLAGNQRGQQVYGSIEQHSQNFISGFGVEMLSEALGINAVAARKLQSQNDQRGEIIVKNGLQLLK  PTLTQQEQEAQAQDQYQYQYQYSERQQTSSRWNGLEENFCTIKVRVNIENPSRADSYNPRAGRITSVNSQKFPILNLIQMSATRVNLYQN  AIIISPFWVNAHSLVYMIQGRSRVQVVSNGKTVFDGVLVLPQYAVLKAEREGCQYIAIKTANANAFVSHLAGKNSVFRALPVD  VVANAYRISREQARSLKNRGEHGAFTPRFQQYYPGLSNESESETSE [SEQ ID 10]</p>
REGIÓN :	138 a 159 - SQSQKFRDEHQIHFQFRQGDIV [SEQ ID 34]
	PÉPTIDO DEHQIHFQFR [SEQ ID 112]
	PÉPTIDO : FRDEHQ [SEQ ID 113]
REGIÓN :	336 a 358 - VNSQKFPILNLIQMSATRVNLYQ [SEQ ID 35]
	PÉPTIDO : FPILNLIQMSATR [SEQ ID 114]
REGIÓN :	423 a 462 - YIAIKTNANAFVSHLAGKNSVFRALPVDVIANAYRISREQ [SEQ ID 36]
	PÉPTIDO : TNANAFVSHLAGK [SEQ ID 115]
	PÉPTIDO : ALPVDVIANAYR [SEQ ID 116]

ES 2 806 989 T3

REGIÓN :	175 a 205 - APIVAVVYDVNNNANQLEPRQKEFLAGNN [SEQ ID 37]
	PÉPTIDO : YVYDVNNNANQLEPRQKEFL [SEQ ID 117]
	PÉPTIDO : VYVYDVNNNANQLEPRQKEFL [SEQ ID 118]
REGIÓN :	318 a 334 - ENPSRADSYNPRAGRIT [SEQ ID 38]
	PÉPTIDO : ADSYNPR [SEQ ID 119]
REGIÓN :	265 a 296 - GLQLLKPTLTQQQEQAQAQDQYQQVQYSERQQ [SEQ ID 39]
	PÉPTIDO : KPTLTQQQEQAQAQDQ [SEQ ID 120]
	PÉPTIDO : QAQAQDQYQQVQY [SEQ ID 121]
	PÉPTIDO : QAQDQYQQVQY [SEQ ID 122]
REGIÓN :	45 a 62 - CRFDRLQAFEPLRKVRSE [SEQ ID 40]
	PÉPTIDO : LQAFEPLR [SEQ ID 123]
REGIÓN :	361 a 408 - ILSPFWNVNAHSLVYMIQGRSRVQVVSNFGKTVFDGVLPRGQLLIIPQ [SEQ ID 41]
	PÉPTIDO : SRVQVVSNFGK [SEQ ID 124]
	PÉPTIDO : WNVNAHSLVY [SEQ ID 125]
	PÉPTIDO : NVNAHSLVY [SEQ ID 126]
	PÉPTIDO : IQGRSRVQVVSNFGK [SEQ ID 127]
	PÉPTIDO : GKTVFDGVLPRGQL [SEQ ID 128]
	PÉPTIDO : FGKTVFDGVLPRGQL [SEQ ID 129]
REGIÓN :	476 a 499 - AFTPRFQQQYYPGLSNESESESE [SEQ ID 42]
	PÉPTIDO : FQQQYYPGLSNESESESE [SEQ ID 130]
	PÉPTIDO : QQYYPGLSN [SEQ ID 131]
	PÉPTIDO : QQQYYPGLSN [SEQ ID 132]
<b>PROTEÍNA DE ARROZ 2: P07728 - 2 -</b>	
<b>MASINRPIVFFTVCLFLCNGSLAQQLLQGSTSQWQSSRRGSPRECRFDRLQAFEPISVRSQAGTTEFFDVSNEQFQCTGVSVRRVIEPR</b>	
GLLPHYTNGASLVYIIQGRGITGPTFGPCPEYQQQFQQSGQAQLTESQSQKFKDEHQKIHRFRQGDVIALPAGVAHWYNDGEVVPV VAIYVTDLNNGANQLDPRQRDFLLAGNKRNPQAYRREVEERSQNIFFSGFSTELLSEALGVSSQVARQLQCQNDQRGEIVRVEHGLSLLQPY ASLQEQEQGVQSRERYQEGYQQSQYSGSGCSNGLDETFCLTRVRQKIDNPNRADTYNPRAGRVTNLNTQNFPIILSVQMSAVKVNLY QNALLSPFWNINAHSVVYITQGRARVQVNNNGKTVFNGELRRGQLLIIPQHYAVVKAQREGCAYIAFKTNPNSMVSHIAGKSSIFRAL PNDVLANAYRISREEAQLKHNRGDFGAFPTPIQYKSYQDVYNAEES [SEQ ID 11]	
REGIÓN :	332 a 362 - PRAGRVTNLNTQNFPIILSVQMSAVKVNLYQ [SEQ ID 43]
	PÉPTIDO : VTNLNTQNFPIILSVQMSAVK [SEQ ID 133]
REGIÓN :	375 a 406 - HSVVYITQGRARVQVNNNGKTVFNGELRRGQ [SEQ ID 44]
	PÉPTIDO : ITQGRARVQVNNNGKTVF [SEQ ID 134]
	PÉPTIDO : ITQGRARVQVNNNGKTVFNGE [SEQ ID 135]
	PÉPTIDO : ITQGRARVQVNNNGKTVFNG [SEQ ID 136]
	PÉPTIDO : RVQVNNNGKTVF [SEQ ID 137]
REGIÓN :	440 a 471 - HIAGKSSIFRALPNDVLANAYRISREEAQLK [SEQ ID 45]
	PÉPTIDO : RALPNDVLANAYRISREE [SEQ ID 138]
	PÉPTIDO : SIFRALPNDVLANAYR [SEQ ID 139]
	PÉPTIDO : SIFRALPNDVLANAY [SEQ ID 140]
	PÉPTIDO : SIFRALPNDVLAN [SEQ ID 141]
	PÉPTIDO : SSIFRALPNDVLANAYR [SEQ ID 142]
	PÉPTIDO : SIFRALPNDVLANAYRISREE [SEQ ID 143]
	PÉPTIDO : SIFRALPND [SEQ ID 144]

ES 2 806 989 T3

REGIÓN :	180 a 208 - VPVVAIYVTDLNNGANQLDPRQRDFLLAG [SEQ ID 46]
	PÉPTIDO : IYVTDLNNGANQLDPRQRD [SEQ ID 145]
	PROTEÍNA DE ARROZ 3: P07730 - 2 - MASINRPIVFTVCLFLLCDGSLAQQLLGQSTSQWQSSRRGSPRGCRFDRLQAFEPISVRSQAGTTEFFDVSNELFQCTGVSVRRVIEPR GLLLPHYTNGASLVYIIQGRGITGPTFPGPCETYQQFQQSGQAQLTESQSQSHKFKDEHQIHRFRQGDVIALPAGVAHWCYNDGEVPPV VAIYVTDINNGANQLDPRQRDFLLAGNKRNPQAYRREVEEWSQNIIFSGFSTELLSEAFGISNQVARQLQCQNDQRGEIVRVERGLSLLQPY ASLQEQEQGQMMSREHYQEGGYQQSQYSGGCPNGLDETFCTMRVRQNIDNPNRADTYNPRAGRVTNLNSQNFILNLVQMSAVKVN LYQNALLSPFWNINAHSIVYITQGRAQVQVNNNGKTVFNGELRRGQLLIVPQHYVVVKAQREGCAYIAFKTNPNSMVSHIAGKSSIFR ALPTDVLANAYRISREEAQLKHNRGDEFGAFTPLQYKSYQDVYNVAESS [SEQ ID 12]
REGIÓN :	311 a 362 - TFCTMRVRQNIDNPNRADTYNPRAGRVTNLNSQNFILNLVQMSAVKVNLYQ [SEQ ID 47]
	PÉPTIDO : VTNLNSQNFILNLVQMSAVK [SEQ ID 146]
	PÉPTIDO : QNIDNPNR [SEQ ID 147]
	PÉPTIDO : ADTYNPR [SEQ ID 148]
	PÉPTIDO : NIDNPNRADTYNPRAGRVTNL [SEQ ID 149]
	PÉPTIDO : RVRQNIDNPNRADTYNPRAGRVTNL [SEQ ID 150]
REGIÓN :	427 a 499 -
	YIAFKTNPNSMVSHIAGKSSIFRALPTDVLANAYRISREEAQLKHNRGDEFGAFTPLQYKSYQDVYNVAESS [SEQ ID 48]
	PÉPTIDO : TNPNSMVSHIAGKSSIFR [SEQ ID 151]
	PÉPTIDO : HNRGDEFGAFTPLQYK [SEQ ID 152]
	PÉPTIDO : SYQDVYNVAESS [SEQ ID 153]
	PÉPTIDO : ISREEAQR [SEQ ID 154]
	PÉPTIDO : SIFRALPTDVLANAYRISREE [SEQ ID 155]
	PÉPTIDO : YRISREEAQLKHNRGDEF [SEQ ID 156]
	PÉPTIDO : YRISREEAQLKHNRGDE [SEQ ID 157]
REGIÓN :	143 a 178 - SQSHKFKDEHQIHRFRQGDVIALPAGVAHWCYNDG [SEQ ID 49]
	PÉPTIDO : FKDEHQIHR [SEQ ID 158]
	PÉPTIDO : QGDVIALPAGVAHW [SEQ ID 159]
REGIÓN :	381 a 409 - TQGRAQVQVNNNGKTVFNGELRRGQLLI [SEQ ID 50]
	PÉPTIDO : TVFNGELRR [SEQ ID 160]
	PÉPTIDO : TVFNGELR [SEQ ID 161]
	PÉPTIDO : QVQVNNNGKTVF [SEQ ID 162]
REGIÓN :	101 a 124 - NGASLVYIIQGRGITGPTFPGCPE [SEQ ID 51]
	PÉPTIDO : YIIQGRGITGPTF [SEQ ID 163]
	PÉPTIDO : VYIIQGRGITGPTF [SEQ ID 164]
REGIÓN :	46 a 66 - CRFDRLQAFEPISVRSQAGT [SEQ ID 52]
	PÉPTIDO : LQAFEPISVR [SEQ ID 165]
REGIÓN :	253 a 292 - QNDQRGEIVRVERGLSLLQPYASLQEQEQGQMMSREHYQE [SEQ ID 53]
	PÉPTIDO : GLSLLQPYASLQEQEQGQMMSR [SEQ ID 166]
	PÉPTIDO : GEIVRVER [SEQ ID 167]
	PÉPTIDO : RGLSLLQPYASLQ [SEQ ID 168]
	PÉPTIDO : RGLSLLQPYASLQEQ [SEQ ID 169]
	PÉPTIDO : RGLSLLQPYASLQEQE [SEQ ID 170]
	PÉPTIDO : RGLSLLQPYASLQE [SEQ ID 171]
REGIÓN :	199 a 233 - PRQRDFLLAGNKRNPQAYRREVEEWSQNIIFSGFST [SEQ ID 54]

	PÉPTIDO : RNPQAYR [SEQ ID 172]
	PÉPTIDO : FLLAGNKRNPQAY [SEQ ID 173]
	PÉPTIDO : EVEEWSQNIF [SEQ ID 174]
	PÉPTIDO : LAGNKRNPQAYR [SEQ ID 175]
	PÉPTIDO : FLLAGNKRNPQA [SEQ ID 176]
<b>PROTEÍNA DE ARROZ 4: Q0D7S0 - 3 -</b> <b>MASNKVVFSVLLAVVSVLAATATMAEYHHQDQVVYTPGPLCQPGMGYPMYPLPRCRALVKRQCVRGRTAAAEQVRRDCCRQLAAV</b> <b>DDSWCRCEAISHMLGGIYRELGAPDVGHMSEVFRGCRRLERAAASLPAFCNVDPNGGGGVCYWLARSGY [SEQ ID 13]</b>	
REGIÓN :	102 a 124 - GGIYRELGAPDVGHMSEVFRGC [SEQ ID 55]
	PÉPTIDO : ELGAPDVGHMSE [SEQ ID 177]
<b>PROTEÍNA DE ARROZ 5: P14614 - 4 -</b> <b>MATIAFSRLSIYFCVLLCHGSMALFPGPNVNPWHNPRQGGFRECRFDRLQAFELRRRSEAGVTEYFDEKNEQFQCTGTIVRRVIEPQ</b> <b>GLLVPRYSNTPGMVYIIQGRGSMGLTFPGCPATYQQQFQQLPEGQSQSQKFRDEHQKIHQFRQGDIVALPAGVAHWFYNEGDAPVVA</b> <b>LYVFDLNNANQLEPRQKEFLLAGNNNREQQMYGRSIEQHSQGNIFSGFNELLSEALGVNALVAKRLQGQNDQRGEIIRVKNGLKLLRP</b> <b>AFAQQQEQAAQQEQAAQYQVYSEEQPPSTRCNGLDENFCTIKARLNIENPSHADTYNPRAGRITRLNSQKFPILNLVQLSATRVNLY</b> <b>QNAILSPFWNVNAHSLVYVQGHARVQVVSNLGKTVFNGVLRPGQLLIIPQHVVLLKAEHEGCQYISFKTNANSMVSHLAGKNSIFRAM</b> <b>PVDVIANAYRISREQARSLKNNRGEELGAFTPRYQQQTYPGFSNESENALE [SEQ ID 14]</b>	
REGIÓN :	: 372 a 397 - HSLVYVQGHARVQVVSNLGKTVFNG [SEQ ID 56]
	PÉPTIDO : IVQGHARVQVVSNLGK [SEQ ID 178]
	PÉPTIDO : IVQGHARVQVVSNL [SEQ ID 179]
	PÉPTIDO : IVQGHARVQVVS [SEQ ID 180]
REGIÓN :	464 a 486 - ARSLKNNRGEELGAFTPRYQQQT [SEQ ID 57]
	PÉPTIDO : NNRGEELGAFTPR [SEQ ID 181]
	PÉPTIDO : GEELGAFTPR [SEQ ID 182]
REGIÓN :	337 a 359 - LNSQKFPILNLVQLSATRVNLYQ [SEQ ID 58]
	PÉPTIDO : FPILNLVQLSATR [SEQ ID 183]
	210 a 293 -
<b>QMYGRSIEQHSGQGNIFSGFNELLSEALGVNALVAKRLQGQNDQRGEIIRVKNGLKLLRPAFAQQQEQAAQQEQAAQYQVQYS [SEQ ID 59]</b>	
	PÉPTIDO : SIEQHSGQGNIFSGFNELLSEALGVNALVAK [SEQ ID 184]
	PÉPTIDO : LQGQNDQR [SEQ ID 185]
	PÉPTIDO : SGFNELLSEALGVNALVAK [SEQ ID 186]
	PÉPTIDO : PAFAQQQEQAAQQEQAAQY [SEQ ID 187]
	PÉPTIDO : VAKRLQGQNDQRGEI [SEQ ID 188]
	PÉPTIDO : ALVAKRLQGQNDQRGEI [SEQ ID 189]
	PÉPTIDO : LQGQNDQRGEIIR [SEQ ID 190]
REGIÓN :	24 a 47 - AQLFGPNVNPWHNPRQGGFRECRF [SEQ ID 60]
	PÉPTIDO : PNVNPWHNPRQGGF [SEQ ID 191]
REGIÓN :	164 a 186 - GVAHWFYNEGDAPVVALYVFDLN [SEQ ID 61]
	PÉPTIDO : FYNEGDAPVVALY [SEQ ID 192]
	PÉPTIDO : FYNEGDAPVV [SEQ ID 193]
	PÉPTIDO : FYNEGDAPVAL [SEQ ID 194]
	PÉPTIDO : FYNEGDAPVA [SEQ ID 195]
REGIÓN :	424 a 463 - YISFKTNANSMVSHLAGKNSIFRAMPVDVIANAYRISREQ [SEQ ID 62]
	PÉPTIDO : TNANSMVSHLAGK [SEQ ID 196]
	PÉPTIDO : AMPVDVIANAYR [SEQ ID 197]

PROTEÍNA DE ARROZ 6: Q0DEV5 - 5 - MSALTTSQLATSATGFGIADRSAPSSLLRHGFQGLKPRSPAGGDATSLVTTTSARATPKQQRSVQRGSRFRFSPVVVYATGAGMNVVAVGA EMAPWSKTGGLGDLVGLGPPAMAANGHRVMVISPRYDQYKDAWDTSVVAEIKVADRYERVFFHCYKRGVDRVDFIDHPSFLEKVVWGK TGEKIYGPDTGVVDYKDNQMRFSLLCQAALAPRILNLNPNPYFKGTYGEDVVFVNCNDWHTGPLASYLKNNYQPNGIYRNAKVAFCIHNIS YQGRFAFEDYPELNLSEFRSSFDIDGYDTPVEGRKINWWMKAGILEADRVLTSPYYAEELISGIARGCELDNIMRLTGITGIVNGMDVSE WDPSKDKYITAKYDATTAEAKALNKEALQAEAGLPVDRKIPLIAFIGRLEEQKGPDMVMAAAIPELMQEDVQIVLLGTGKKKFEKLLKSMEE KYPGKVRVVKFNAPLAHLIMAGADVLAVPSRFEPCCGLIQLQGMRYGTPCACASTGGVLDTVIEGKTGFHMGRLSVDCKVVEPSDVKKV AATLKRAIKVVGTPAYEEMVRNMCNMNQLSWKGPKNWENVLLGLGVAGSAPGIEGDEIAPLAKENVAAP [SEQ ID 15]	
REGIÓN :	571 a 608 - KGPAKNWENVLLGLGVAGSAPGIEGDEIAPLAKENVA [SEQ ID 63]
	PÉPTIDO : NWENVLLGLGVAGSAPGIEGDEIAPLAK [SEQ ID 198]
	PÉPTIDO : NVLLGLGVAGSAPGIEGDE [SEQ ID 199]
	PÉPTIDO : NWENVLLGLGVAGSAPGIEGDEIAPLAK [SEQ ID 200]
REGIÓN :	458 a 488 - RAVVKFNAPLAHLIMAGADVLAVPSRFEPCCG [SEQ ID 64]
	PÉPTIDO : FNAPLAHLIMAGADVLAVPSR [SEQ ID 201]
	PÉPTIDO : FNAPLAHLIM [SEQ ID 202]
	PÉPTIDO : FNAPLAHLIMAGADVLAVPSR [SEQ ID 203]
REGIÓN :	545 a 566 - KRAIKVVGTPAYEEMVRNMCNMN [SEQ ID 65]
	PÉPTIDO : VVGTPAYEEMVR [SEQ ID 204]
REGIÓN :	93 a 147 - APWSKTGGLGDLVGLGPPAMAANGHRVMVISPRYDQYKDAWDTSVVAEIKVADRY [SEQ ID 66]
	PÉPTIDO : TGGLGDLVGLGPPAMAANGHR [SEQ ID 205]
	PÉPTIDO : YDQYKDAWDTSVVAEIK [SEQ ID 206]
	PÉPTIDO : DAWDTSVVAEIK [SEQ ID 207]
	PÉPTIDO : VMVISPR [SEQ ID 208]
REGIÓN :	305 a 413 - INWMKAGILEADRVLTSPYYAEELISGIARGCELDNIMRLTGITGIVNGMDVSEWDPSKDKYITAKYDATTAEAKALNKEALQAEAGLPVDR KIPLIAFIGRLEEQK [SEQ ID 67]
	PÉPTIDO : LTGITGIVNGMDVSEWDPSKDK [SEQ ID 209]
	PÉPTIDO : VLTVSPYYAEELISGIAR [SEQ ID 210]
	PÉPTIDO : EALQAEAGLPVDRK [SEQ ID 211]
	PÉPTIDO : YDATTAEIAEK [SEQ ID 212]
	PÉPTIDO : IPLIAFIGR [SEQ ID 213]
	PÉPTIDO : AGILEADR [SEQ ID 214]
	PÉPTIDO : IPLIAFIGR [SEQ ID 215]
REGIÓN :	: 158 a 202 - RGVDRVDFIDHPSFLEKVVWGKTGEKIYGPDTGVVDYKDNQMRFSLLC [SEQ ID 68]
	PÉPTIDO : VFIDHPSFLEK [SEQ ID 216]
	PÉPTIDO : GPDTGVVDYKDNQM [SEQ ID 217]
	PÉPTIDO : IYGPDTGVVDYKDNQMR [SEQ ID 218]
	PÉPTIDO : IYGPDTGVVDYK [SEQ ID 219]
REGIÓN :	206 a 226 - LEAPRILNLNPNPYFKGTYGE [SEQ ID 69]
	PÉPTIDO : ILNLNPNPYFK [SEQ ID 220]

PROTEÍNA P02855	
	PÉPTIDO : KNPQLQDLDI [SEQ ID 356]
PROTEÍNA P07730	
	PÉPTIDO : GQSTSQWQSSR [SEQ ID 357]

ES 2 806 989 T3

PROTEÍNA P02855	
	PÉPTIDO : QSTSQWQSSR [SEQ ID 358]
PROTEÍNA P07728	
	PÉPTIDO : QSTSQWQSSR (también en P07730) [SEQ ID 359]
PROTEÍNA P13918	
	PÉPTIDO : EEEEEQGGEEINK [SEQ ID 360]
PROTEÍNA P14323	
	PÉPTIDO : PSTNPWHSPR [SEQ ID 361]
	PÉPTIDO : AQAQDQYQQVQYSE [SEQ ID 362]
	PÉPTIDO : SEAGVTEYFDEKNELFQCTGTFVIRR [SEQ ID 363]
	PÉPTIDO : QAQAQDQYQQVQYSE [SEQ ID 363]
	PÉPTIDO : GSMGLTFPGCPAT (también en P14614) [SEQ ID 365]
	PÉPTIDO : GSMGLTFPGCPATY (también en P14614) [SEQ ID 366]
PROTEÍNA P14614	
	PÉPTIDO : LGAFTPRY [SEQ ID 367]
	PÉPTIDO : LGAFTPRYQQ [SEQ ID 368]
	PÉPTIDO : ALGVNALVAKRLQGQN [SEQ ID 369]
	PÉPTIDO : LGAFTPRYQ [SEQ ID 370]
	PÉPTIDO : GSMGLTFPGCPAT (también en P14323) [SEQ ID 371]
	PÉPTIDO : GSMGLTFPGCPATY (también en P14323) [SEQ ID 372]
PROTEÍNA P15838	
	PÉPTIDO : SNNPFKFLVPARQS [SEQ ID 373]
PROTEÍNA Q6K508	
	PÉPTIDO : CAGVFVIRR [SEQ ID 374]
PROTEÍNA Q6K7K6	
	PÉPTIDO : GSPLQSPRGF [SEQ ID 375]
	PÉPTIDO : RSSWQQQSY [SEQ ID 376]
	PÉPTIDO : SFGGSPLQSPR [SEQ ID 377]
	PÉPTIDO : ILPTKQLQPTW [SEQ ID 378]
	PÉPTIDO : GKPRSSWQQQ [SEQ ID 379]
	PÉPTIDO : FGGSPQLSPRG [SEQ ID 380]
PROTEÍNA Q9M3X6	
	PÉPTIDO : LNLLGFGINAENNE [SEQ ID 381]
PÉPTIDOS ADICIONALES [SEQ ID 381 - 417]	
LRGFSK [381] GALMLPHYN GALMLPHYNSR VFDGVLPRG LQSQND LQSQNDQRGEI QSQNDQRGEIHHVK RGEIHHVK RLQSQNDQ RLQSQNDQRG [SEQ ID 390]	

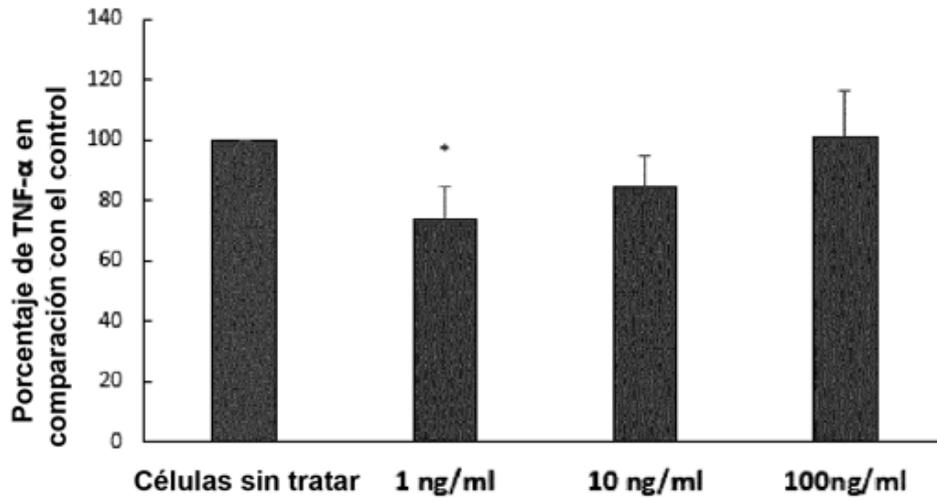


ES 2 806 989 T3

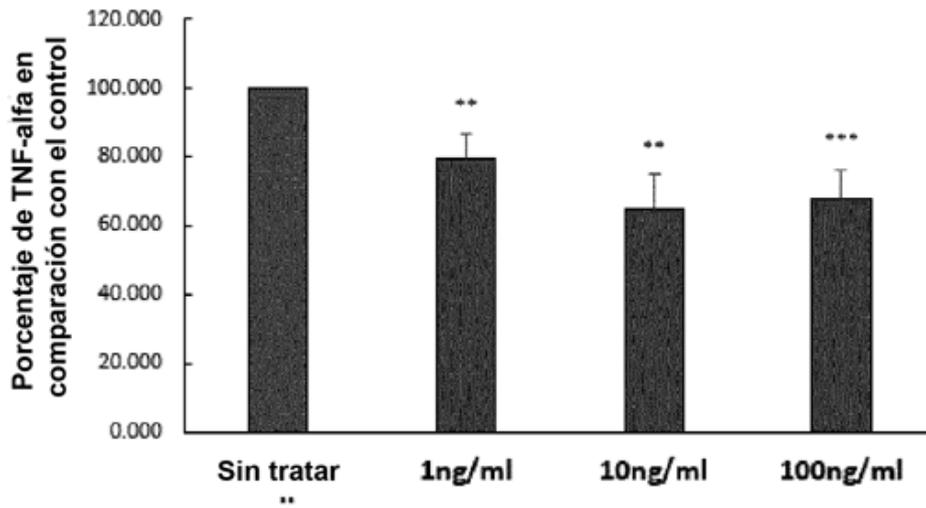
	PÉPTIDO : APTGTFIASGWWGKD [SEQ ID 221]
--	--

**REIVINDICACIONES**

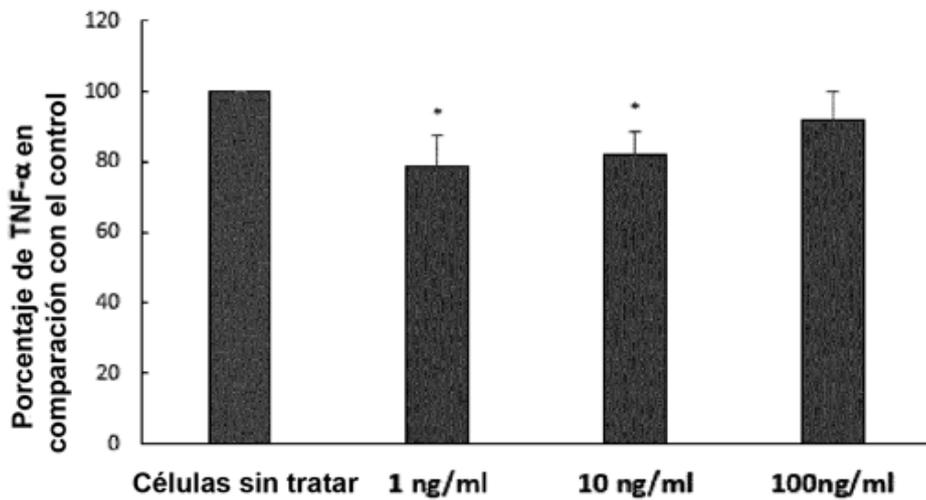
1. Péptido seleccionado de SEQ ID NO: 343 ó 344.
- 5 2. Variante antiinflamatoria de un péptido según la reivindicación 1, que tiene de 1 a 3 alteraciones de aminoácidos en comparación con el péptido según la reivindicación 1, en la que la o cada alteración de aminoácidos se selecciona de inserción, adición, delección y sustitución de un aminoácido.
- 10 3. Variante antiinflamatoria según la reivindicación 2, que tiene de 1 a 2 alteraciones de aminoácidos en comparación con el péptido según la reivindicación 1.
4. Variante antiinflamatoria según la reivindicación 2, que tiene 1 alteración de aminoácidos en comparación con el péptido según la reivindicación 1.
- 15 5. Péptido según la reivindicación 1, o variante antiinflamatoria según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, que se modifica de manera química por modificaciones en cadenas laterales, incorporación de un grupo protector, incorporación de hasta 5 aminoácidos no naturales durante la síntesis peptídica, y el uso de agentes reticulantes y otros métodos que imponen restricción conformacional en el péptido.
- 20 6. Conjugado que comprende un péptido según la reivindicación 1, o variante antiinflamatoria según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, conjugado, unido o fusionado a un reactivo de unión.
7. Conjugado según la reivindicación 6, en el que la pareja de unión se selecciona de un polímero de polietilenglicol, un compuesto que aumenta el peso molecular, un grupo lipófilo o una molécula de anticuerpo.
- 25 8. Composición que comprende uno o más péptidos según la reivindicación 1, variante antiinflamatoria según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, o péptido modificado químicamente según la reivindicación 5 ó 6.
- 30 9. Composición según la reivindicación 8, y que comprende SEQ ID NO: 343 y SEQ ID NO: 344.
10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 8 ó 9, en la que la composición es un polvo.
- 35 11. Alimento o bebida, complemento nutricional, composición de cuidado personal o composición farmacéutica, que comprende una composición según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10.
- 40 12. Péptido según la reivindicación 1, variante antiinflamatoria según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, péptido modificado químicamente según la reivindicación 5 ó 6, o composición según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, para su uso en un método para el tratamiento o la prevención de inflamación o un trastorno inflamatorio en un mamífero.
- 45 13. Péptido según la reivindicación 1, variante antiinflamatoria según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, péptido modificado químicamente según la reivindicación 5 ó 6, o composición según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, para su uso como en la reivindicación 12, en el que el trastorno inflamatorio se selecciona de un trastorno inflamatorio de la piel, un trastorno inflamatorio de las articulaciones, un trastorno inflamatorio del aparato cardiovascular, un trastorno inflamatorio del pulmón o vías respiratorias y un trastorno inflamatorio intestinal.



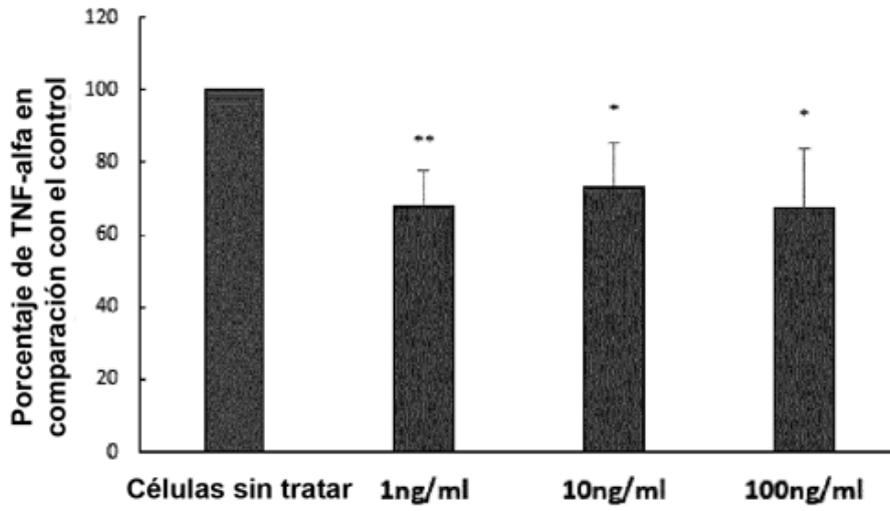
**FIGURA 1**



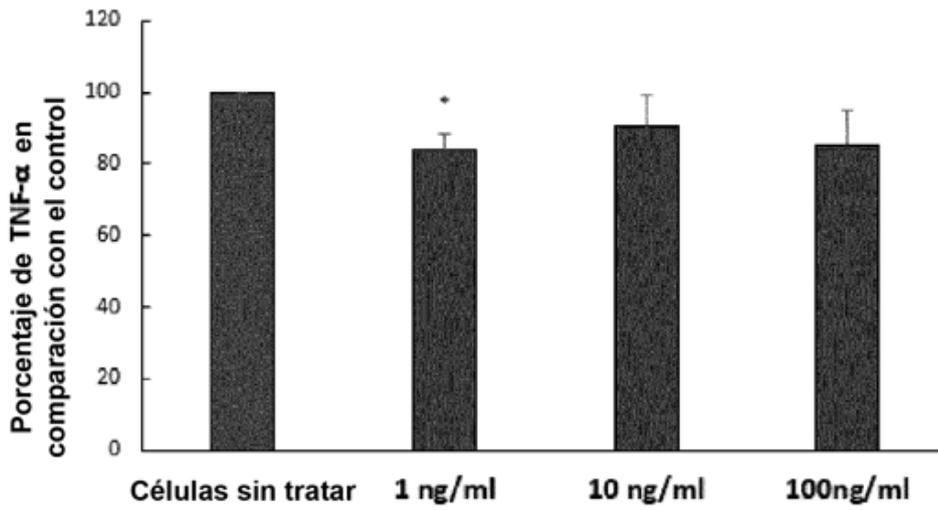
**FIGURA 2**



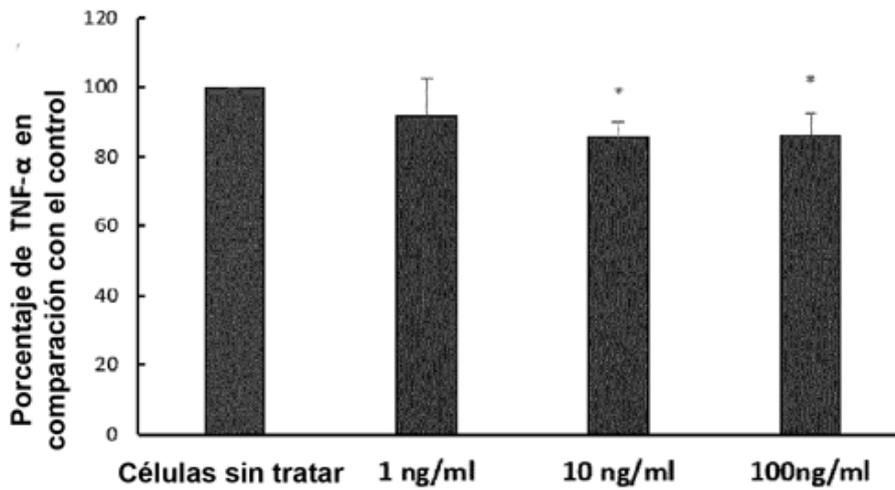
**FIGURA 3**



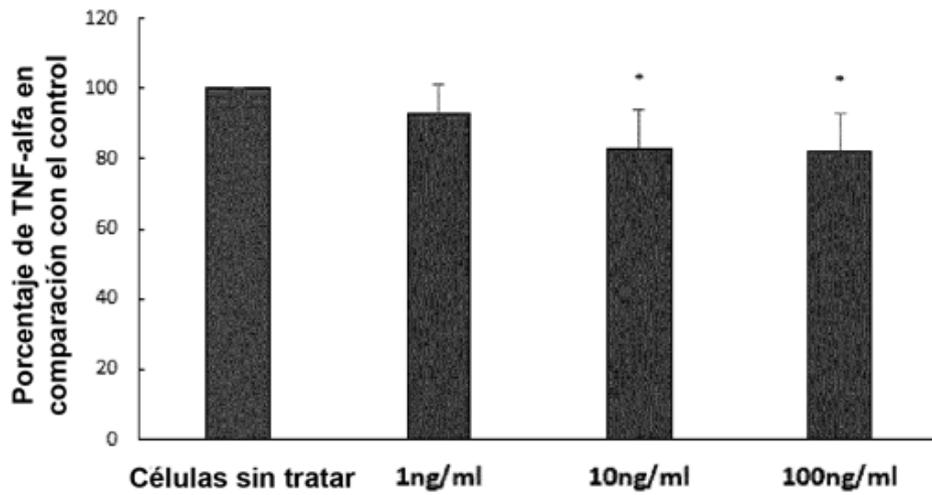
**FIGURA 4**



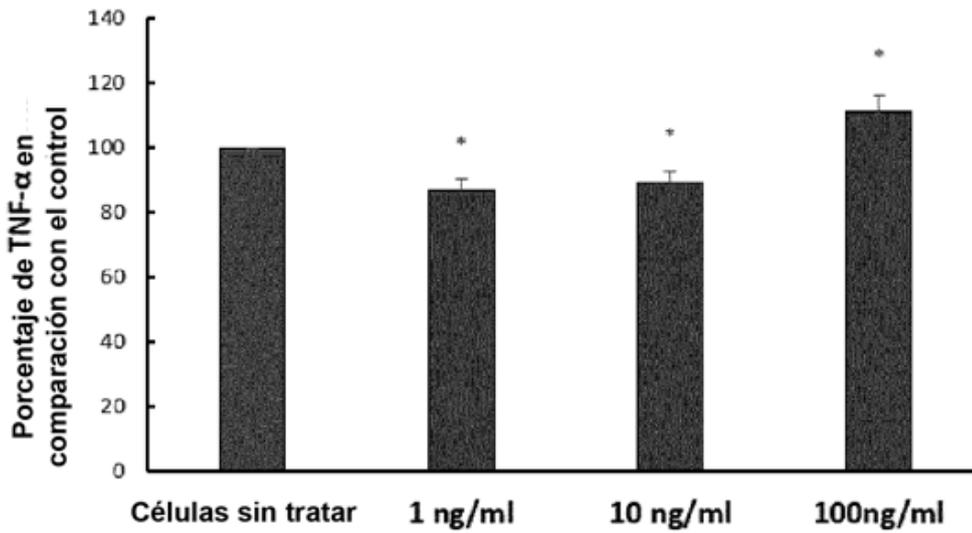
**FIGURA 5**



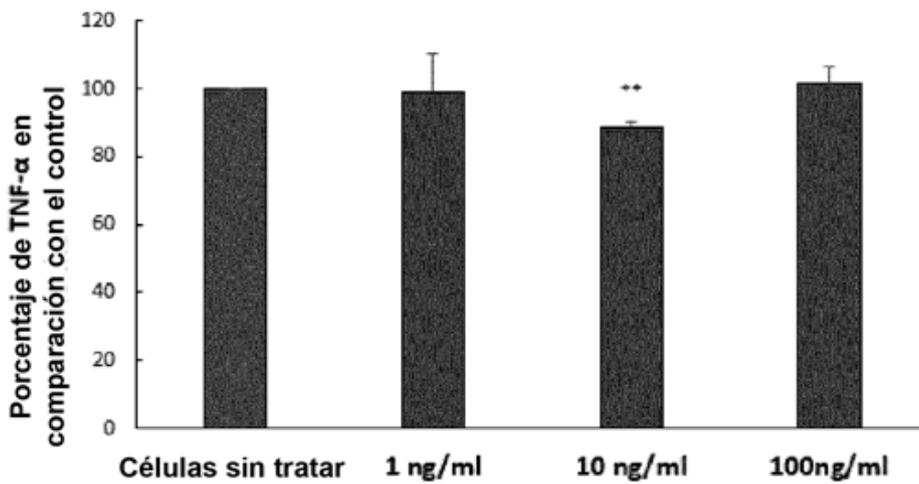
**FIGURA 6**



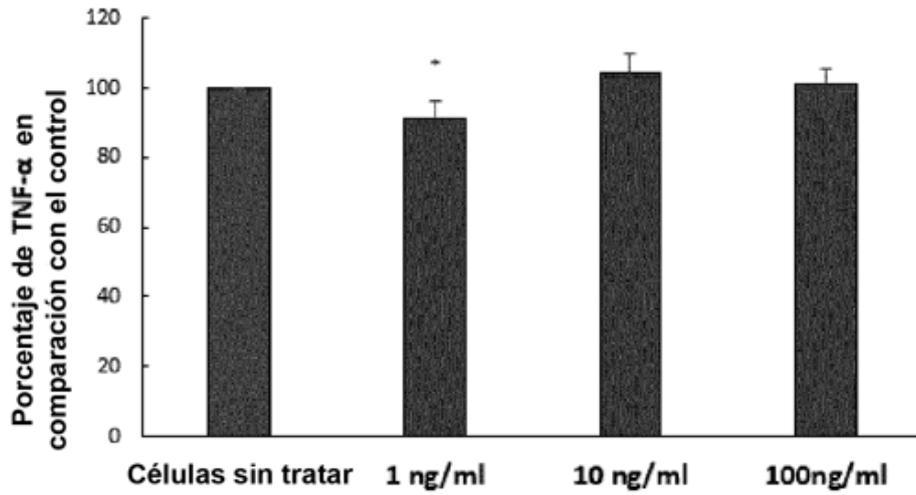
**FIGURA 7**



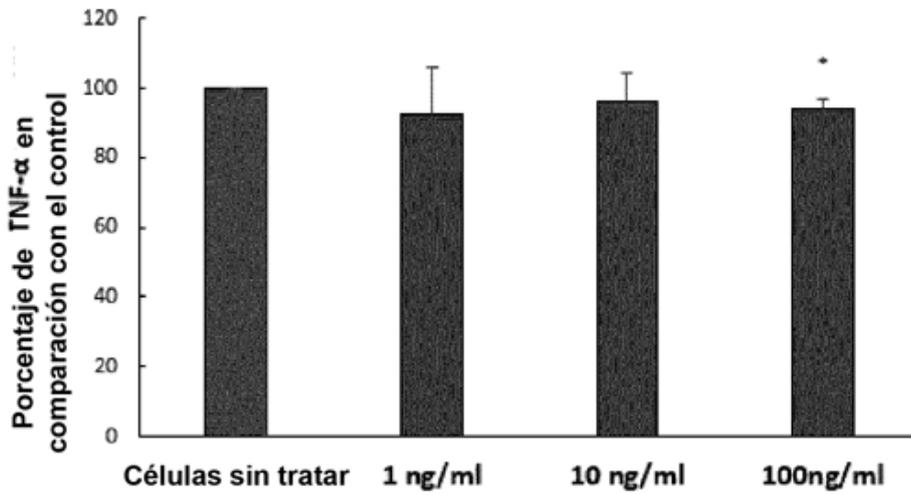
**FIGURA 8**



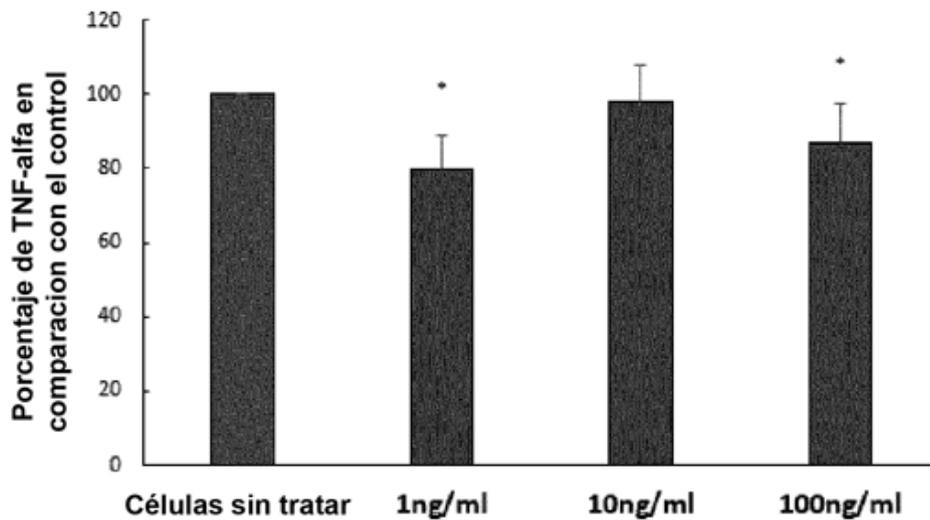
**FIGURA 9**



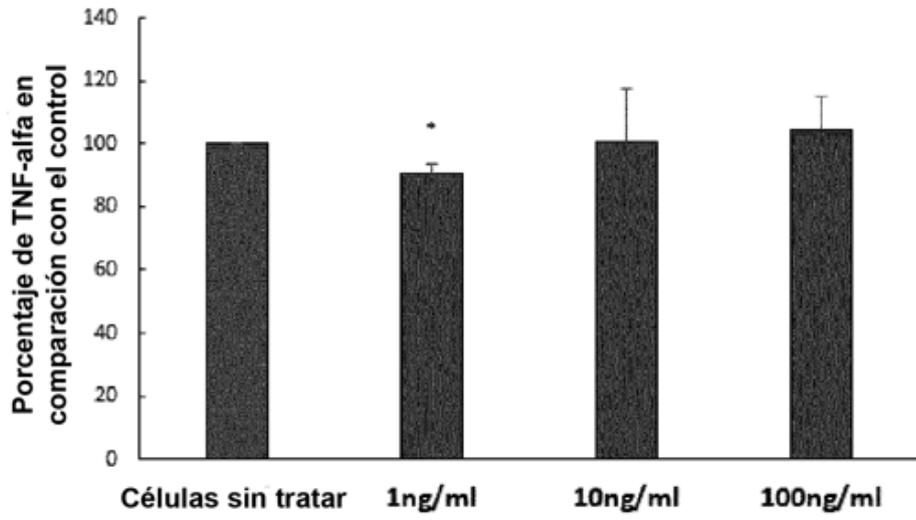
**FIGURA 10**



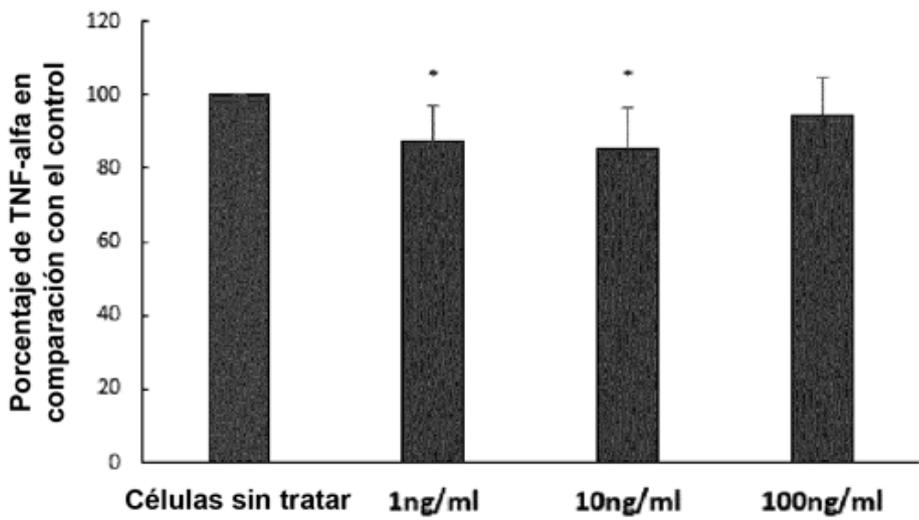
**FIGURA 11**



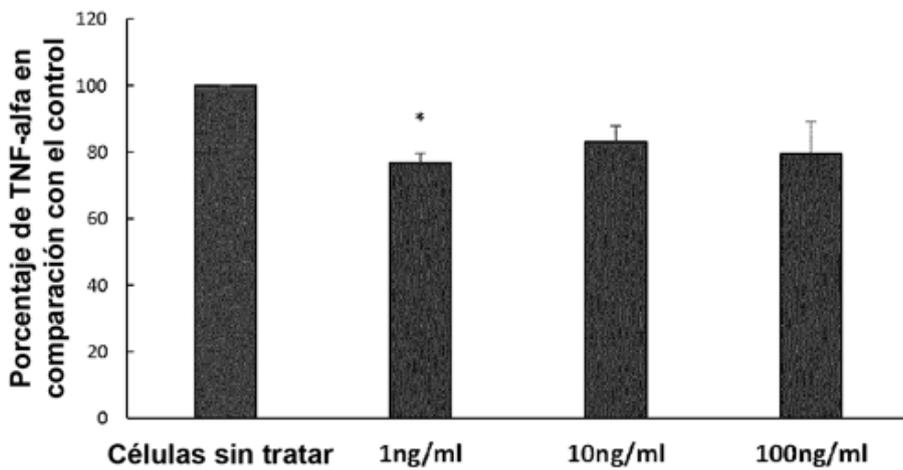
**FIGURA 12**



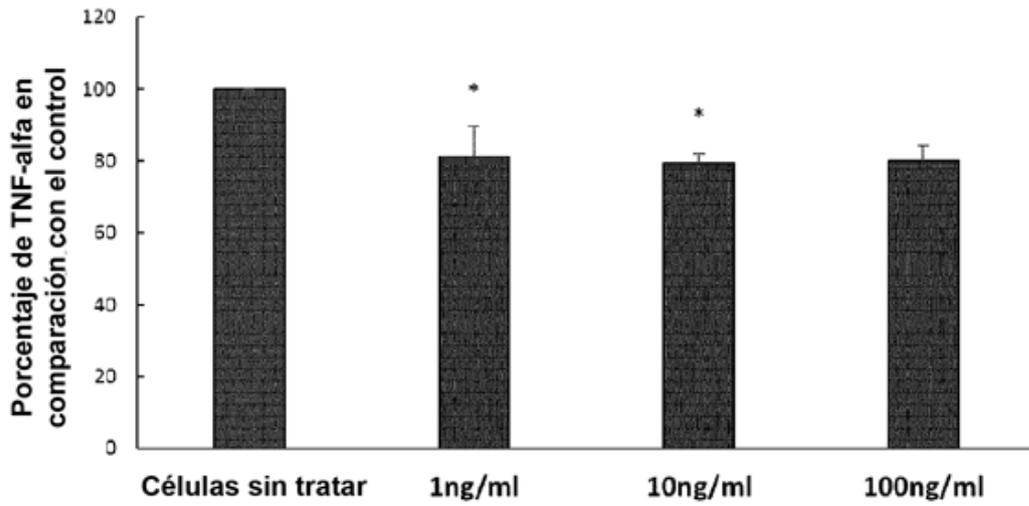
**FIGURA 13**



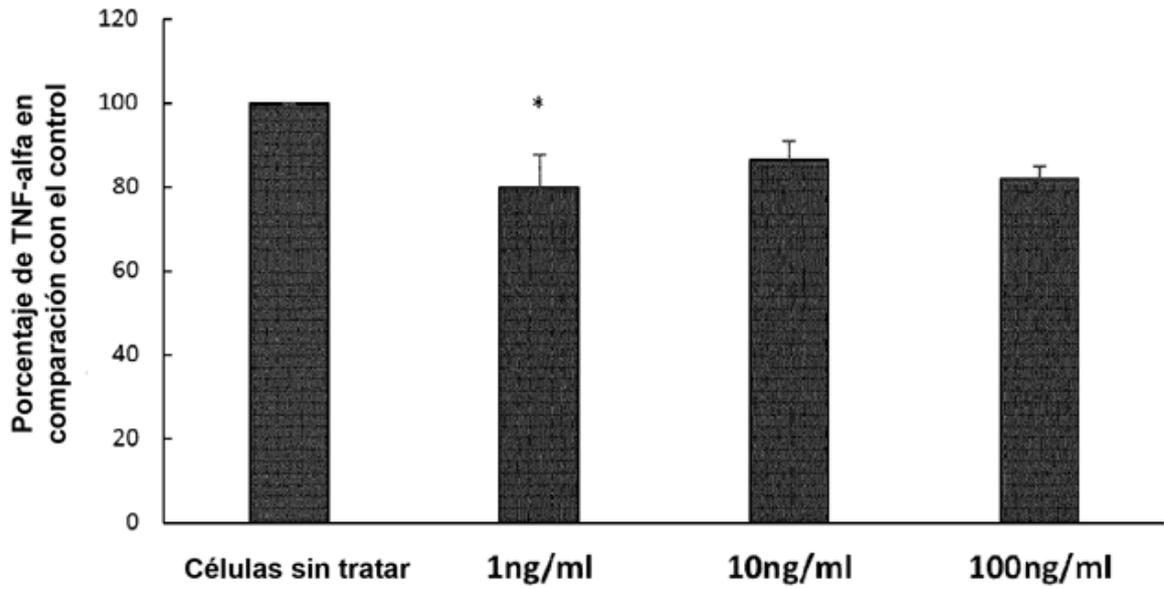
**FIGURA 14**



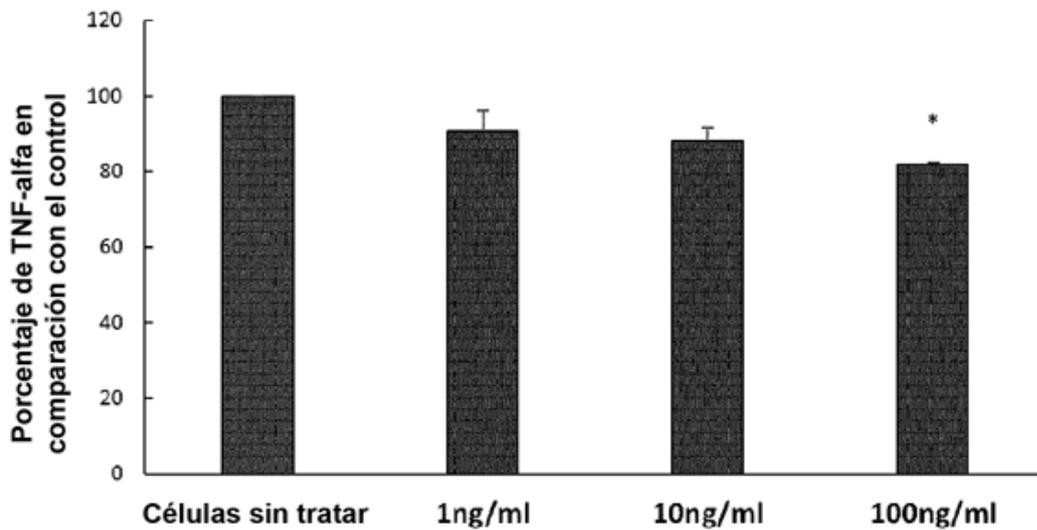
**FIGURA 15**



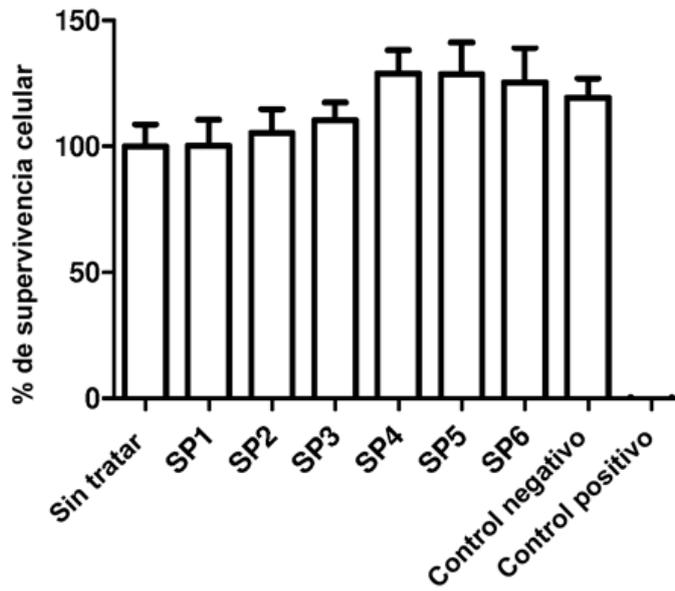
**FIGURA 16**



**FIGURA 17**

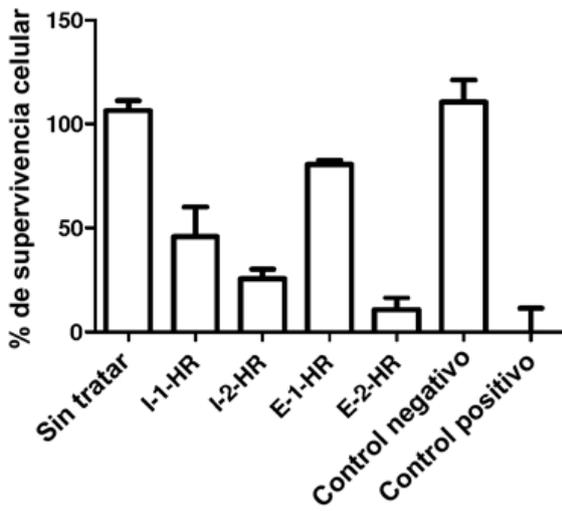


**FIGURA 18**

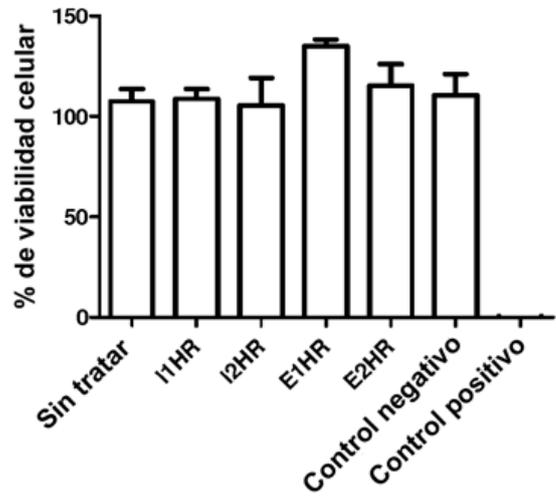


**FIGURA 19**

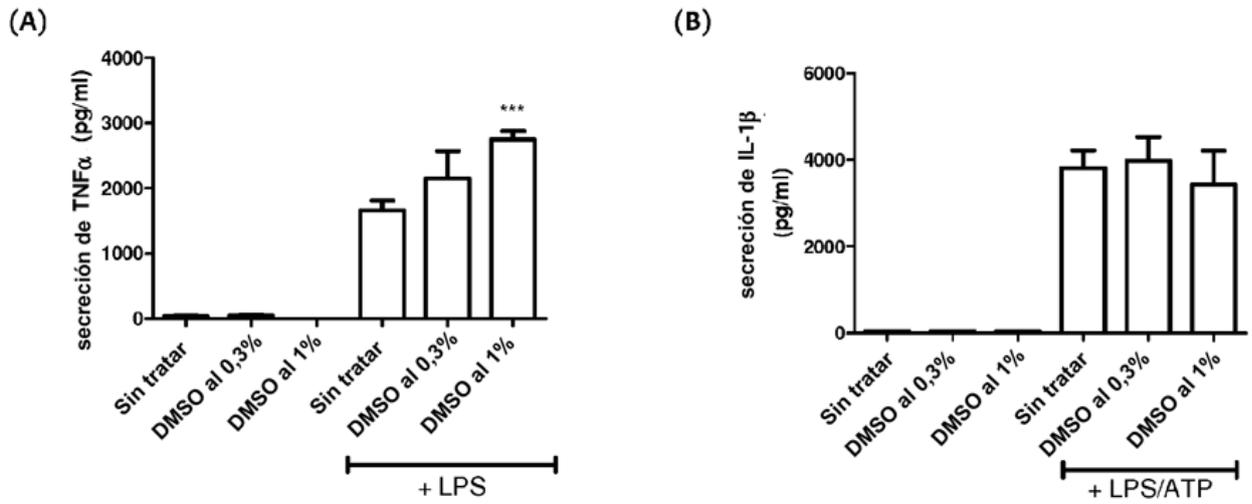
(A)



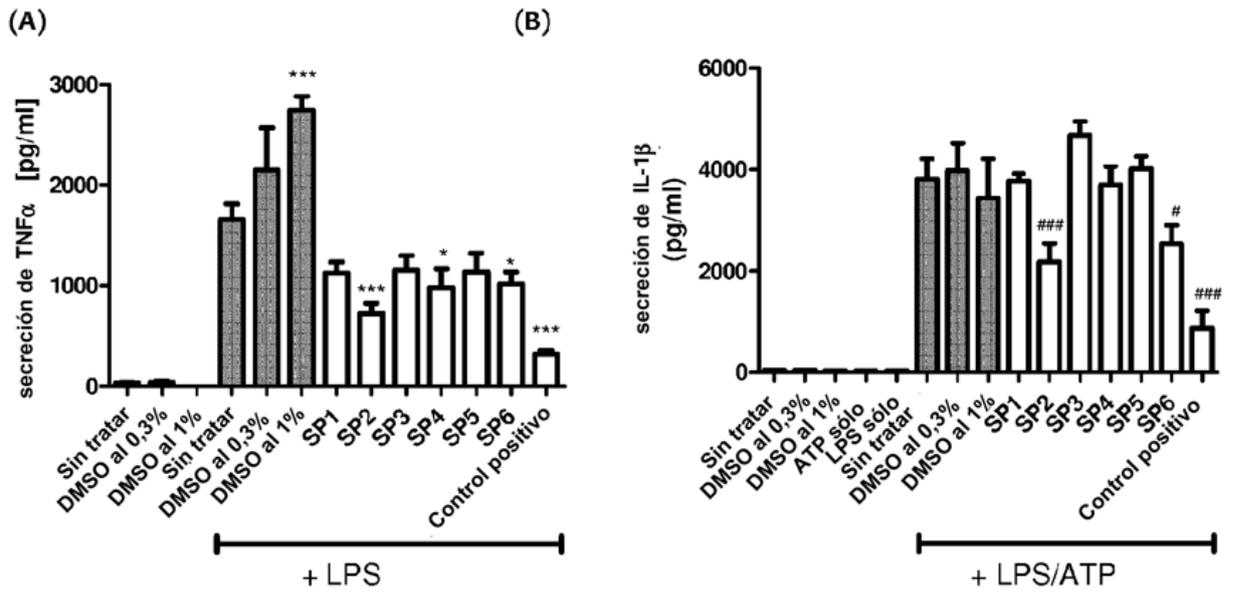
(B)



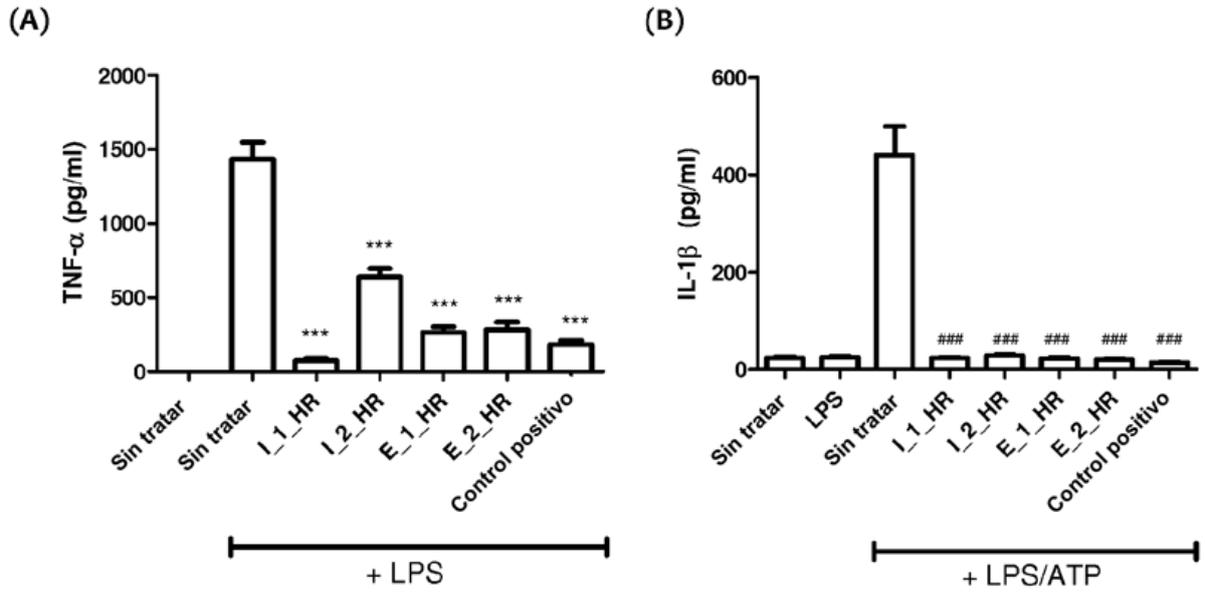
**FIGURA 20**



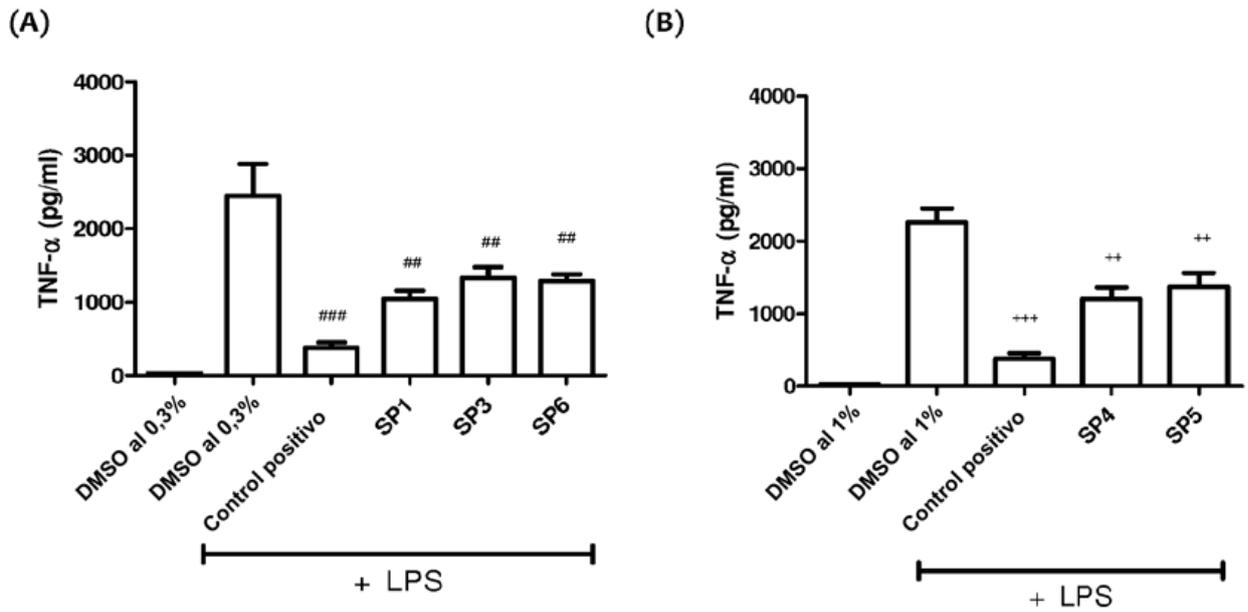
**FIGURA 21**



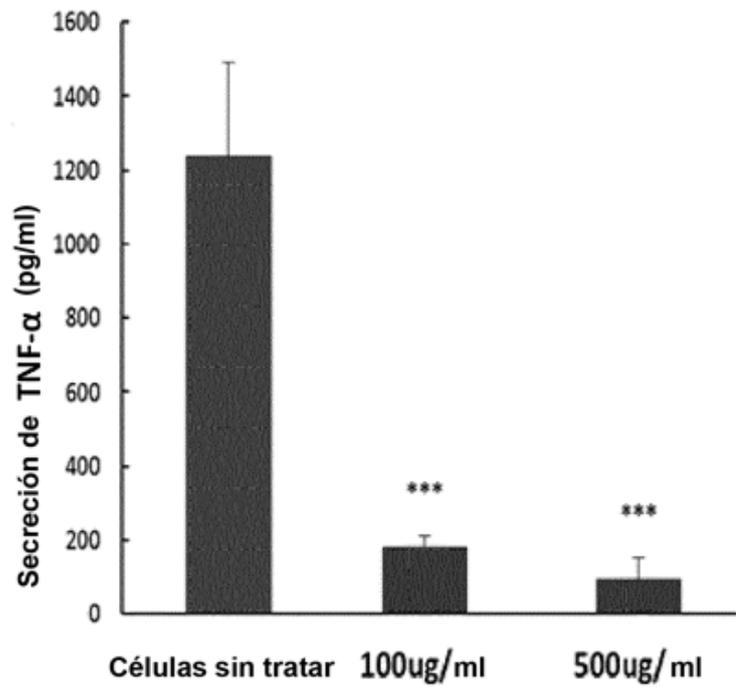
**FIGURA 22**



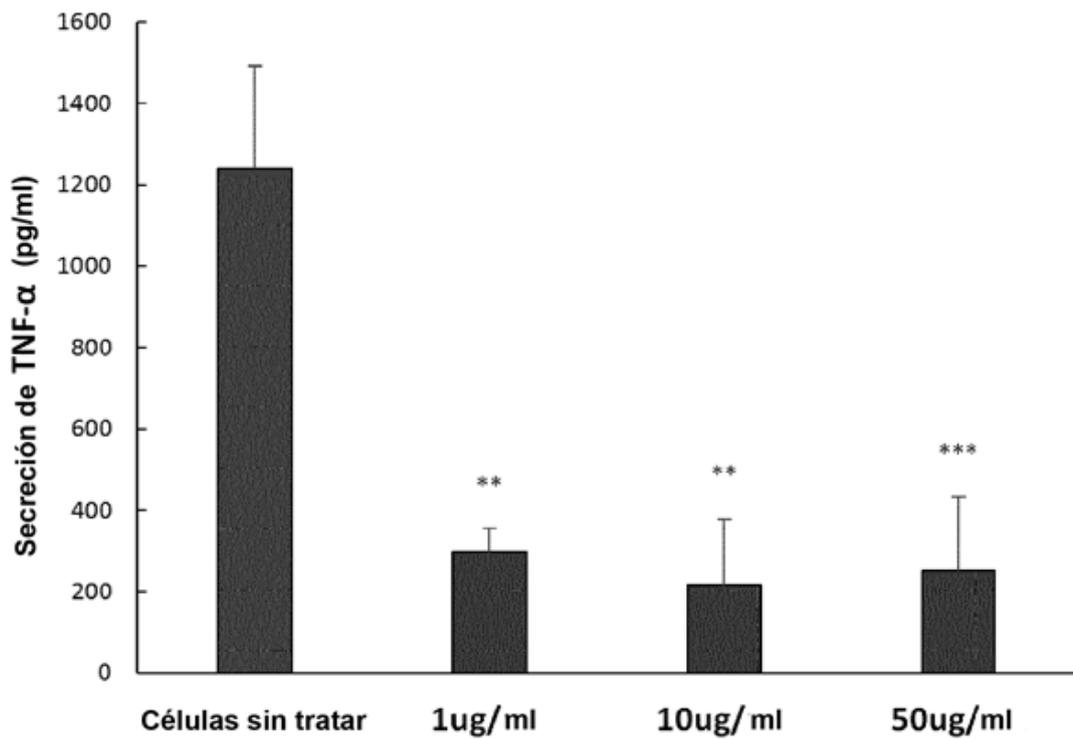
**FIGURA 23**



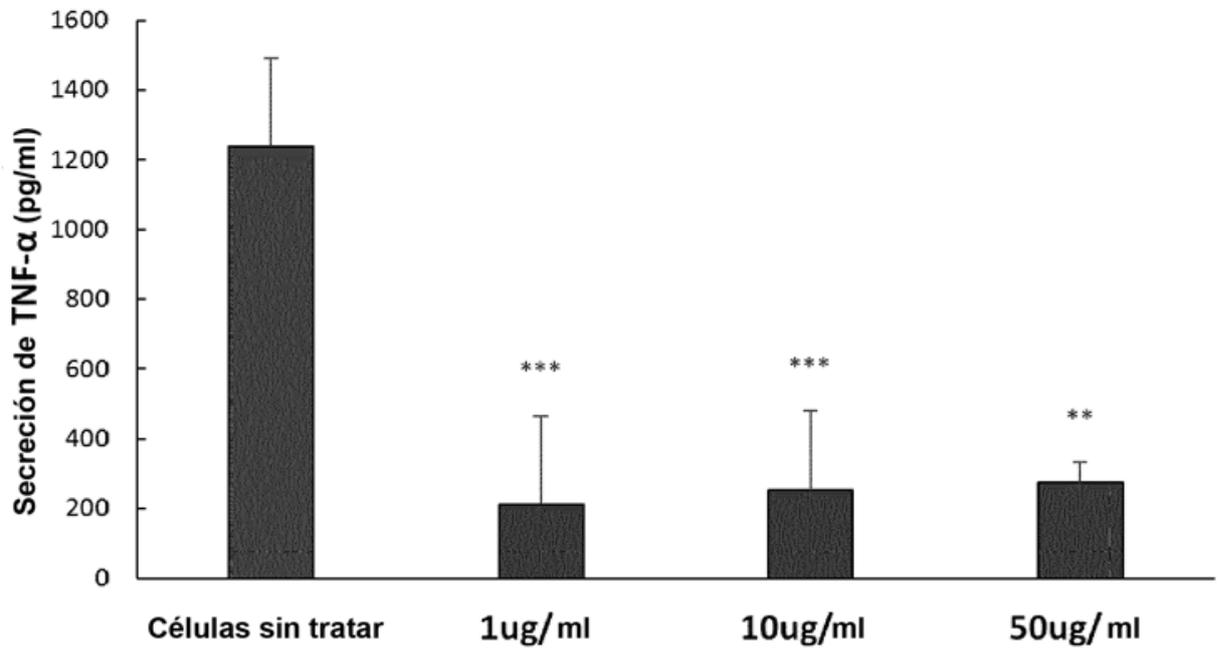
**FIGURA 24**



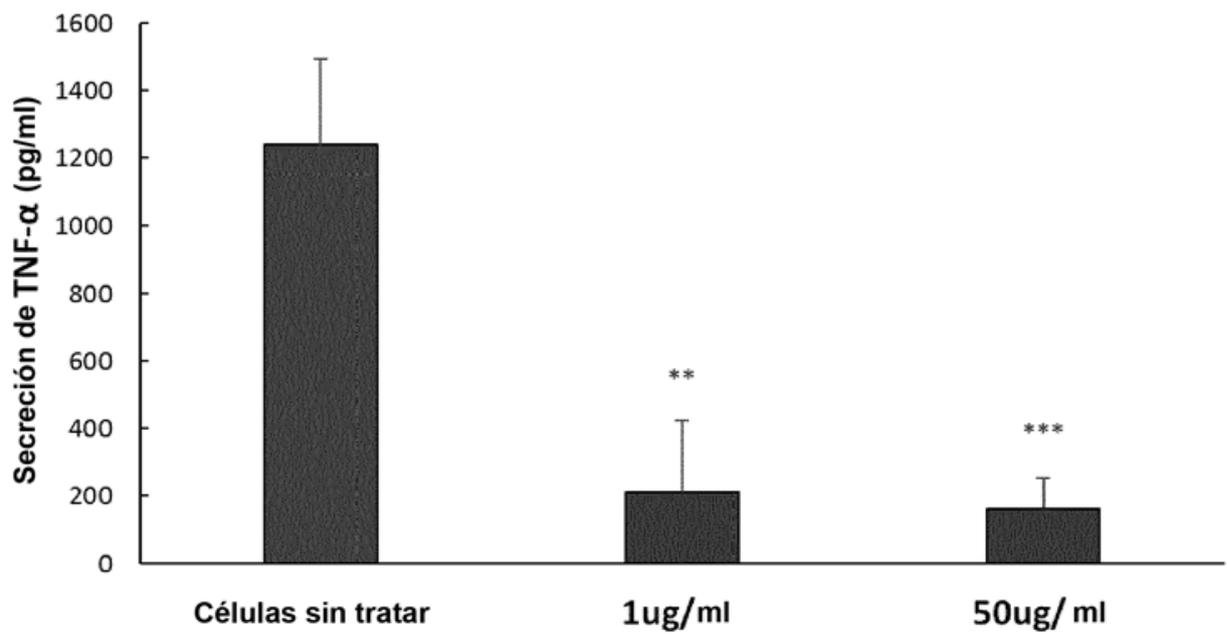
**FIGURA 25**



**FIGURA 26**



**FIGURA 27**



**FIGURA 28**