

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 037**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.01.2017 PCT/US2017/014605**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.07.2017 WO17127827**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2017 E 17703290 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3405208**

54 Título: **Compuestos y métodos para tratar la inflamación**

30 Prioridad:

22.01.2016 US 201662286070 P

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

10.02.2021

73 Titular/es:

TUFTS MEDICAL CENTER, INC. (33.3%)

800 Washington Street

Boston, MA 02111, US;

TRUSTEES OF TUFTS COLLEGE (33.3%) y

ON TARGET THERAPEUTICS, LLC (33.3%)

72 Inventor/es:

COHEN, CHARLES;

KUMAR, KRISHNA;

KOPIN, ALAN S.;

HARWOOD, BENJAMIN N.;

RAMAN, VENKATA S. y

HAMRAH, PEDRAM

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 805 037 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

Compuestos y métodos para tratar la inflamación

Antecedentes de la divulgación

5 Existe una variedad de afecciones inflamatorias que incluyen, pero no se limitan a, inflamación ocular, enfermedad del ojo seco (DED) y dolor neuropático ocular.

10 La inflamación ocular puede ser causada por una infección microbiana del ojo. Tal infección puede ser fúngica, viral o bacteriana. La inflamación ocular también puede ser causada por trauma, quemaduras, enfermedades autoinmunes, lesiones químicas, lentes de contacto u otros estímulos externos. El dolor neuropático es un problema de salud importante que ocurre en hasta el 7% de la población general. Hasta el 50% de los pacientes no responden a la terapia estándar.

15 La DED es una enfermedad multifactorial de las lágrimas y la superficie ocular con inflamación que juega un papel en su patogénesis. El ojo seco es un problema común y a menudo crónico, particularmente en adultos mayores. En 2000, su prevalencia en los Estados Unidos se estimó en alrededor del 17% en las mujeres y el 12% en los hombres, pero se ha incrementado en los últimos años y se estima en más del 50%. Las personas con ojos secos no producen suficientes lágrimas o sus lágrimas son de mala calidad. Las lágrimas son producidas por varias glándulas en y alrededor de los párpados. La producción de lágrimas tiende a disminuir con la edad, con diversas afecciones médicas o como efecto secundario de ciertos medicamentos. Las condiciones ambientales, tales como el viento y los climas secos, también pueden disminuir el volumen de las lágrimas debido al aumento de la evaporación de las lágrimas. Cuando la cantidad normal de producción de lágrimas disminuye o las lágrimas se evaporan demasiado rápido de los ojos, pueden desarrollarse síntomas de ojo seco. En cuanto a la calidad de las lágrimas, las lágrimas están formadas por tres capas: aceite, agua y moco. Cada componente protege y nutre la superficie frontal del ojo. Una capa de aceite suave ayuda a prevenir la evaporación de la capa de agua, mientras que la capa de mucina extiende las lágrimas de manera uniforme sobre la superficie del ojo. Si las lágrimas se evaporan demasiado rápido o no se extienden de manera uniforme sobre la córnea debido a deficiencias en cualquiera de las tres capas de lágrimas, pueden desarrollarse síntomas de ojo seco. La forma común de ojos secos ocurre cuando la capa de agua de las lágrimas es inadecuada. Esta condición también se llama queratoconjuntivitis seca (KCS).

25 La presente divulgación aborda la necesidad de pacientes que padecen diversas afecciones inflamatorias que incluyen, pero no se limitan a, inflamación ocular, DED y dolor neuropático ocular.

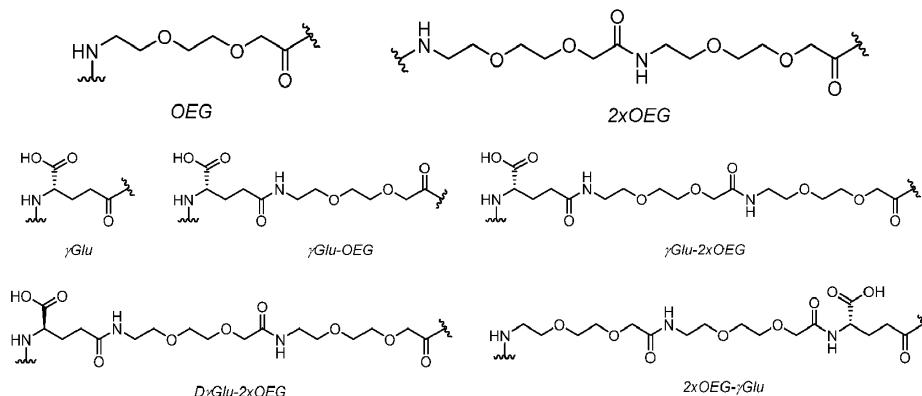
Resumen de la divulgación

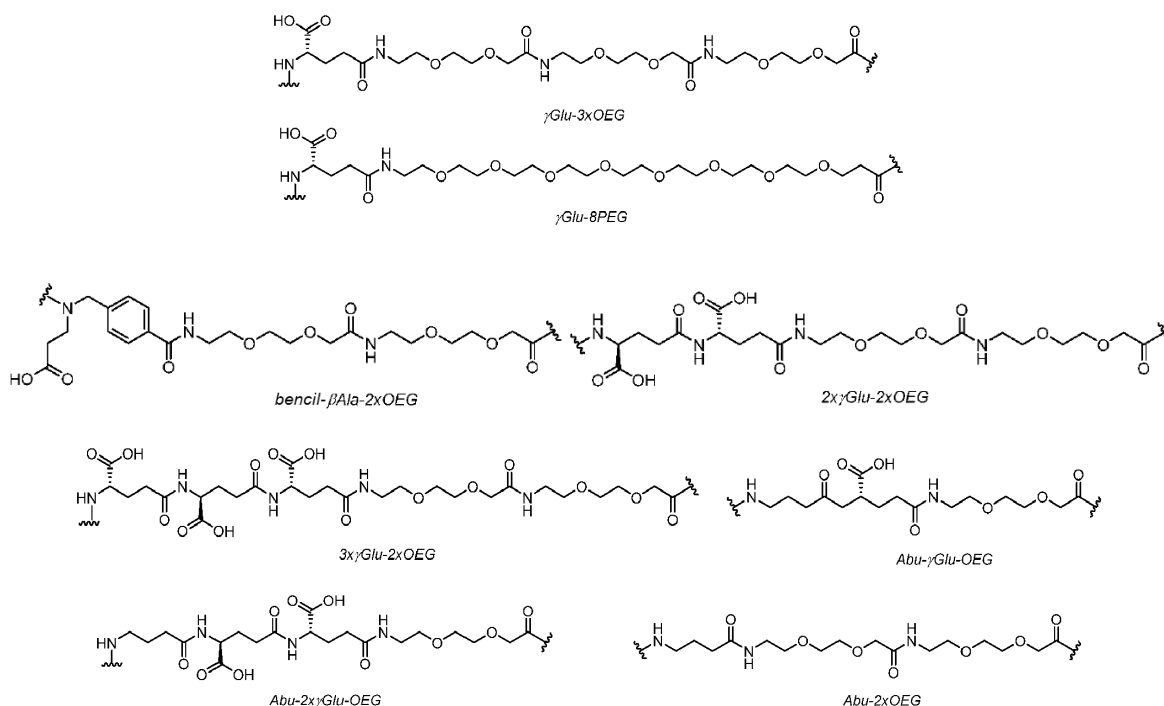
30 La presente divulgación proporciona composiciones y métodos para tratar o mejorar al menos un síntoma de una afección inflamatoria.

La presente divulgación también se refiere a una composición que comprende (a) quemerina o un fragmento o análogo de la misma y (b) una entidad lipídica unida a la quemerina o fragmento o análogo de la misma.

35 En algunos ejemplos, la entidad lipídica está enlazada a la quemerina o fragmento o análogo de la misma a través de un enlazante. El enlazante puede comprender polietilenglicol, un péptido o una combinación de los mismos.

En algunos ejemplos, el enlazante se puede seleccionar del grupo que consiste en:





5 En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina comprende al menos 5 aminoácidos, al menos 10 aminoácidos, al menos 20 aminoácidos, al menos 30 aminoácidos, al menos 40 aminoácidos, al menos 50 aminoácidos, al menos 60 aminoácidos, al menos 70 aminoácidos, al menos 80 aminoácidos, al menos 90 aminoácidos, al menos 100 aminoácidos, al menos 110 aminoácidos, al menos 120 aminoácidos, al menos 130 aminoácidos, al menos 140 aminoácidos, o al menos al menos 150 aminoácidos, preferiblemente de la SEQ ID NO: 1. Más preferiblemente, el fragmento de quemerina retiene la actividad de activación de CMKLR1.

10 En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina tiene una secuencia de aminoácidos desde la posición 21 a 157 de la SEQ ID NO: 1. La SEQ ID NO: 1 corresponde a la secuencia de aminoácidos de la quemerina.

En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina comprende YFPGQFAFS (SEQ ID NO: 2).

15 En algunos ejemplos, el análogo de quemerina es resistente a la proteólisis. Por ejemplo, el análogo de quemerina comprende YFLPSQFA-Tic-S (SEQ ID NO: 3), donde Y, S y A en cursiva son aminoácidos D y Tic representa ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-3-carboxílico.

20 En algunos ejemplos, la entidad lipídica se selecciona del grupo que consiste en ácido α -linolénico, ácido γ -linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido linoleico, ácido dihomog-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosatetraenoico, ácido palmitoleico, ácido vaccénico, ácido paulínico, ácido oleico, ácido eláidico, ácido gondoico, ácido erúxico, ácido nervónico, ácido de hidromiel, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido estearico, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), gangliósido GM1, gangliósido GM2, gangliósido GM3, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina (DOPS), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), un glicosfingolípido, un esfingolípido, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂), una ceramida, colesterol, ergosterol, fitosterol, un hopanoide y un esteroide.

25 En algunos ejemplos, la entidad lipídica se selecciona del grupo que consiste en ácido α -linolénico, ácido γ -linolénico, ácido palmítico, ácido vaccénico, ácido oleico y ácido eláidico.

En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede estar enlazada en o cerca del terminal N de la quemerina o fragmento o análogo de la misma.

30 En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede estar enlazada en o cerca del terminal C de la quemerina o fragmento o análogo de la misma.

La presente divulgación también se refiere a una composición farmacéutica que comprende la composición de la presente divulgación y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 La presente divulgación también se refiere a un método para tratar una afección inflamatoria en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica de la presente divulgación o una composición que comprende quemerina o un fragmento o análogo de la misma.

En algunos ejemplos, la afección inflamatoria es la inflamación ocular o la enfermedad del ojo seco.

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica se administra por vía tópica.

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica se administra una vez al día, dos veces al día o tres veces al día.

En algunos ejemplos, el sujeto es un humano.

- 5 En un primer aspecto de la invención, se proporciona una composición para uso en un método de tratamiento de inflamación ocular en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición, en donde la composición comprende:

un fragmento de quemerina que tiene la secuencia de YFPGQFAFS (SEQ ID NO.: 2) o un análogo de quemerina que tiene la secuencia de Y*FLPS*QFA*-Tic-S (SEQ ID NO.: 3), * que denota D aminoácidos, en donde Tic representa el ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico;

- 10 una entidad lipídica enlazada al fragmento de quemerina o análogo de quemerina; y

opcionalmente un enlazante que conecta la entidad lipídica al fragmento de quemerina o análogo de quemerina.

Las realizaciones preferidas de la invención en cualquiera de sus diversos aspectos son como se divulga a continuación o como se define en las sub-reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

- 15 La Figura 1 es un esquema que representa el ensayo de luciferasa. Las células HEK293 se transfectaron durante 24 horas con ADNc que codifica: a) GPCR, b) un ligando enlazado (cuando corresponda), c) un gen indicador de luciferasa y d) β -galactosidasa (control de transfección). La actividad de luciferasa se midió usando reactivo SteadyLite. Los datos de luciferasa se normalizaron a valores de β -galactosidasa.

- 20 La Figura 2 es un conjunto de esquemas que muestran ligandos enlazados a membrana (MTL) y ligandos anclados a membrana sintética (SMAL). (Izquierda) Los MTL son proteínas expresadas de forma recombinante que incluyen un ligando peptídico, una etiqueta de epítipo, una secuencia enlazante y un dominio transmembrana. (Derecha) Los SMAL se sintetizan a medida. Los ligandos peptídicos se conjugan con un enlazante de PEG y un lípido para crear análogos sintéticos de MTL. Debido a sus propiedades lipofílicas, los SMAL se anclan en la membrana cuando se aplican a las células.

- 25 La Figura 3 es un esquema que representa el procesamiento de péptidos de quemerina. La quemerina (1-163) se escinde tanto en el terminal N como en el terminal C durante el procesamiento endógeno para generar un péptido maduro (21-157) que es un agonista conocido del GPCR CMKLR1. Un fragmento de nueve aminoácidos C-terminal de quemerina (149-157) (SEQ ID NO: 2) también se ha informado como un activador de CMKLR1. Se incorporó una serie de péptidos de quemerina en constructos de ligando enlazados a membrana.

- 30 Las Figuras 4A-4B son gráficos que muestran que la quemerina enlazada a membrana activa CMKLR1. Los constructos de quemerina enlazada a la membrana que codifican bien sea la quemerina madura (tChem21-157) o la quemerina troncada (tChem149-157) activan tanto la CMKLR1 humana (Figura 4A) como la CMKLR1 de ratón (Figura 4B).

- 35 Las Figuras 5A-5D son gráficos que muestran la actividad luciferasa de l-Chem149-157 y s-Chem149-157. El péptido de quemerina lipídica (l-Chem149-157) tiene una potencia mejorada tanto en CMKLR1 humano como en ratón en comparación con su contraparte soluble (Figuras 5A, 5C). Los anclajes l-Chem149-157 en la membrana que confieren resistencia al lavado en comparación con su contraparte soluble (s-Chem149-157) (Figuras 5B, 5D).

- 40 Las Figuras 6A-6B son gráficos que muestran que los agonistas CMKLR1 Chem9 estables en C16 y Resolvin E1 abrogan el dolor neuropático en un modelo de ratón con lesión por constricción crónica (CCI). Después de la administración intratecal del compuesto, 1-Chem estable (Chem9 estable en C16) bloqueó la hipersensibilidad mecánica durante más de 24 horas después de la administración del compuesto (Figura 6A). Por el contrario, Resolvin E1 perdió eficacia 3 horas después de la inyección (figura 6B).

- 45 La Figura 7 muestra el equilibrio del péptido lipídico. Además de la afinidad peptídica por su receptor cognado CMKLR1, en el contexto de la administración sistémica, los péptidos lipídicos también pueden unirse tanto a la membrana plasmática como a la albúmina sérica. Por lo tanto, cambiar la cola lipídica podría alterar el equilibrio entre estos diversos estados de unión.

- 50 Las Figuras 8A-8D son gráficos que muestran que la albúmina de suero bovino (BSA) altera de forma diferencial las propiedades farmacológicas de los análogos de Quemerina 9 estables lipídicos. La resistencia al lavado (un índice de adherencia a la membrana) de Chem9 estable al ácido palmítico disminuye en presencia de BSA (Figuras 8A-8B). Con un análogo de Chem 9 estable al ácido linolénico (18C: 3), la actividad se reduce además (Figuras 8C-8D) después del lavado en presencia de BSA.

Las Figuras 9A-9D son gráficos que muestran el reclutamiento de β -Arrestina después de la estimulación con análogos de quemerina 9 lipidados. La potencia y la eficacia máxima se ven alteradas por la sustitución de la cola de lípidos. La actividad se evaluó usando una línea celular estable Link-Light™ CMKLR1 que mide el reclutamiento de β -Arrestina.

5 Las Figuras 10A-10B son fotografías para el examen clínico con lámpara de hendidura 10 días después de la desecación (ratones con enfermedad del ojo seco (DED)). El vehículo se usa en la FIG. 10 A. oTTx-010 se usa en la FIG. 10B. oTTx-010 significa palmitato - PEGsKGG - H₂N-Y*-F-L-P-S*-Q-F-A*-Tic-S-COOH (SEQ ID NO: 3), * que denota aminoácidos D y Tic significa ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico.

La Figura 11 es un gráfico que muestra que las puntuaciones de tinción con fluoresceína corneal fueron menores en ratones DED tratados con oTTx-010. Sistema de puntuación NEI: 0-15.

10 La Figura 12 es un gráfico que muestra que el reflejo de parpadeo como un signo de irritación ocular fue significativamente menor en el grupo tratado con oTTx-010 en comparación con el grupo de ratones DED tratados con vehículo.

15 La Figura 13 es un conjunto de gráficos de citometría de flujo que muestra que el porcentaje de células inmunes activadas (MHCII +) en el nodo linfático de drenaje de los ratones tratados con oTTx-010 disminuyó en comparación con los controles del vehículo.

La Figura 14 es un conjunto de gráficos de citometría de flujo que muestran que las células T reguladoras aumentaron en el nodo linfático de drenaje de los ratones tratados con oTTx-010 en comparación con el vehículo (mostrando más tolerancia). Citometría de flujo de drenaje de nodos linfáticos activados en CD45 + CD3 + y CD4 + (células T).

20 La Figura 15 es un conjunto de gráficos de citometría de flujo que muestran que la infiltración celular disminuye después de la aplicación tópica de oTTx-010 en comparación con el vehículo. La citometría de flujo de las córneas distendidas se realizó el día 3 después de la cauterización. Los ratones se trataron tópicamente tres veces al día con 10 μ l de oTTx-010 o vehículo durante 3 días. 10 μ L de 210 nanomolar oTTx-010 en solución 1x PBS = 4.2 microgramos de oTTx-010/dosis.

Descripción detallada de la divulgación

25 CMKLR1 es un receptor acoplado a proteínas G que se ha demostrado que modula la nocicepción. Este receptor se expresa en glía, neuronas del ganglio de la raíz dorsal y células inmunes. El ligando endógeno (agonista) para CMKLR1 es la quemerina, una proteína de 163 aminoácidos. La quemerina, también conocida como proteína 2 respondedora del receptor del ácido retinoico (RARRES2), proteína del gen 2 inducida por tazaroteno (TIG2) o proteína TIG2 sensible a RAR es una proteína que en los humanos está codificada por el gen RARRES2. La secuencia de aminoácidos de la quemerina (homo sapiens) se muestra a continuación en la SEQ ID NO: 1.

Secuencia de referencia de NCBI: NP_002880.1

MRLLIPLAL WLGA VGVGVA ELTEAQRRLG LVALEEFHKKH PPVQWAFQET
SVESAVDTPF PAGIFVRLEF KLQQTSCRKR DWKKPECKVR PNGRKRKCLA
CIKLGSEDKV LGRLVHCPIE TQVLR AEEH QETQCLRVQR AGEDPHSFYF
PGQFAFSKAL PRS (SEQ ID NO: 1).

35 La quemerina está inactiva como preproquemerina (que tiene la SEQ ID NO: 1) y se activa a través de la escisión del terminal C y el terminal N (Figura 3) para formar un fragmento de quemerina que tiene una secuencia de aminoácidos desde la posición 21 a 157 de la SEQ ID NO: 1, que puede funcionar como agonista para CMKLR1. Este fragmento de quemerina tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

ELTEAQRRLG LVALEEFHKKH PPVQWAFQET SVESAVDTPF PAGIFVRLEF
KLQQTSCRKR DWKKPECKVR PNGRKRKCLA CIKLGSEDKV LGRLVHCPIE
TQVLR AEEH QETQCLRVQR AGEDPHSFYF PGQFAFS (SEQ ID NO: 4).

40 La presente divulgación también proporciona una composición que comprende (a) quemerina o un fragmento o análogo de la misma y (b) una entidad lipídica enlazada a la quemerina o fragmento o análogo de la misma. Sin desear limitarse a ninguna teoría, las propiedades farmacológicas de la quemerina o un fragmento o análogo de la misma se pueden modular mediante la selección de la entidad lipídica. En algunos ejemplos, la composición de la presente divulgación puede funcionar como un agonista de CMKLR1.

45 El fragmento de quemerina es un fragmento de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. El fragmento de quemerina puede retener algunas o todas las funciones biológicas de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, por ejemplo, que funciona como un agonista de CMKLR1. En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina

comprende al menos 5 aminoácidos, al menos 10 aminoácidos, al menos 20 aminoácidos, al menos 30 aminoácidos, al menos 40 aminoácidos, al menos 50 aminoácidos, al menos 60 aminoácidos, al menos 70 aminoácidos, al menos 80 aminoácidos, al menos 90 aminoácidos, al menos 100 aminoácidos, al menos 110 aminoácidos, al menos 120 aminoácidos, al menos 130 aminoácidos, al menos 140 aminoácidos, o al menos al menos 150 aminoácidos. En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina comprende aproximadamente 5-150 aminoácidos, aproximadamente 5-120 aminoácidos, aproximadamente 5-100 aminoácidos, aproximadamente 5-80 aminoácidos, aproximadamente 5-50 aminoácidos o aproximadamente 5-30 aminoácidos. En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina tiene una secuencia de aminoácidos desde la posición 21 a 157 de la SEQ ID NO: 1. En algunos ejemplos, el fragmento de quemerina comprende YFPGQFAFS (SEQ ID NO: 2).

El análogo de quemerina puede ser bien sea un análogo de la longitud total o de un fragmento de quemerina. El análogo de quemerina puede retener algunas o todas las funciones biológicas de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, por ejemplo, funcionando como un agonista de CMKLR1. El análogo de quemerina puede comprender al menos una modificación de aminoácidos, al menos dos modificaciones de aminoácidos, al menos cinco modificaciones de aminoácidos o al menos diez modificaciones de aminoácidos. En algunos ejemplos, la modificación de aminoácidos es la sustitución de aminoácidos. El análogo de quemerina puede ser más resistente a la proteólisis en comparación con el polipéptido no modificado. En algunos ejemplos, el análogo de quemerina comprende YFLPSQFA-Tic-S (SEQ ID NO: 3), en donde Y, S y A en cursiva son aminoácidos D y Tic significa ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico. Se encuentra que el análogo de quemerina de la SEQ ID NO: 3 es resistente a la proteólisis. Véase Shimamura et al., "Identification of a stable chemerin analog with potent activity toward ChemR23," Peptides 30, 2009, 1529-1538.

Puede utilizarse cualquiera de una variedad de entidades lipídicas de acuerdo con la presente divulgación. De acuerdo con varios ejemplos, una entidad lipídica puede comprender una entidad capaz de insertarse en una bicapa lipídica (por ejemplo, una membrana celular). En algunos ejemplos, una entidad lipídica es capaz de incorporarse a una balsa lipídica en una bicapa lipídica (por ejemplo, una membrana celular).

En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede comprender un ácido graso saturado o insaturado. Los números en el nombre del lípido se usan para describir las cadenas de ácidos grasos en el lípido. Los números generalmente se presentan en el formato (número de carbonos en la cadena de ácidos grasos): (número de dobles enlaces en la cadena de ácidos grasos), por ejemplo, 16:0 serían 16 carbonos en la cadena de ácidos grasos con cero enlaces dobles. El ácido graso saturado o insaturado puede incluir al menos 4 carbonos, al menos 5 carbonos, al menos 6 carbonos, al menos 7 carbonos, al menos 8 carbonos, al menos 9 carbonos, al menos 10 carbonos o al menos 15 carbonos en la cadena de ácidos grasos. En algunos ejemplos, el ácido graso saturado o insaturado puede incluir aproximadamente 4-24 carbonos en la cadena de ácidos grasos. El número de dobles enlaces en la cadena de ácidos grasos puede estar en el rango de 0-10, por ejemplo, 0-8, 0-6, 1-8, 1-6. Por ejemplo, la entidad lipídica puede ser C22:0, C22:1, C22:2, C22:3, C22:4, C22:5, C22:6, C20:0, C20:1, C20:2, C20:3, C20:4, C20:5, C20:6, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C18:4, C18:5, C18:6, C10:0, C10:1, C10:2, C10:3, C10:4, etc.

Por ejemplo, la entidad lipídica se puede seleccionar del grupo que consiste en ácido α -linolénico, ácido γ -linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido linoleico, ácido dihomo- γ -linolénico, ácido araquidónico, ácido docosatetraenoico, ácido palmitoleico, ácido vaccénico, ácido paulínico, ácido oleico, ácido elaidico, ácido gondoico, ácido erúxico, ácido nervónico, ácido de hidromiel, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), gangliósido GM1, gangliósido GM2, gangliósido GM3, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina (DOPS), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), un glicosfingolípido, un esfingolípido, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂), una ceramida, colesterol, ergosterol, fitosterol, un hopanoide, un esteroide, GML fluorado, GM2 fluorado y GM3 fluorado. En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede ser ácido α -linolénico. En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede ser ácido γ -linolénico. En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede ser ácido palmítico. En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede ser ácido vaccénico. En algunas realizaciones, la entidad lipídica puede ser ácido oleico. En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede ser ácido elaidico.

La unión de una entidad lipídica a un polipéptido se denomina lipidación. En algunos ejemplos, la lipidación puede comprender N-miristoilación. Como se usa en este documento, "N-miristoilación" se refiere a la unión de un miristato a una glicina en el terminal N.

En algunas realizaciones, la lipidación puede comprender palmitoilación. Como se usa en el presente documento, "palmitoilación" se refiere a la creación de un enlace tioéster de ácidos grasos de cadena larga en uno o más residuos de cisteína presentes en un péptido o proteína.

En algunos ejemplos, la lipidación comprende la adición de anclaje a GPI. Como se usa en el presente documento, "adición de anclaje a GPI" se refiere al enlace de glicosil-fosfatidilinositol (GPI) con el terminal C de una proteína.

En algunos ejemplos, la lipidación comprende prenilación. Como se usa en el presente documento, "prenilación" se refiere a la creación de un enlace tioéter de un lípido isoprenoide (por ejemplo, farnesilo (C-15) o geranilgeranilo (C-20)) a una cisteína presente en un péptido o proteína. En algunos ejemplos, la lipidación comprende geranilación. En algunos ejemplos, la lipidación incluye geranilgeranilación. En algunos ejemplos, la lipidación comprende la asociación

de una entidad ligando con cualquier compuesto que sea soluble en una membrana celular (por ejemplo, 10:1 en equilibrio constante $K_{\text{asoc}} \geq 10$).

5 En algunos ejemplos, la lipidación puede comprender uno o más de los siguientes: unión de diacilglicerol a la cadena lateral de una cisteína N-terminal de un péptido o proteína; unión de O-octanoilo a una serina o treonina de un péptido o proteína; y unión de S-arqueol a una cisteína de un péptido o proteína. En algunos ejemplos, la lipidación puede ocurrir, por ejemplo, en cualquier lisina, ácido glutámico, ácido aspártico, serina, treonina, cisteína y/o tirosina. En algunos ejemplos en los que un análogo de quemerina comprende una o más ornitinas, puede producirse una lipidación en cualquier ornitina.

10 En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede estar enlazada en o cerca del terminal N de la quemerina o fragmento o análogo de la misma. En algunos ejemplos, la entidad lipídica puede estar unida en o cerca del terminal C de la quemerina o fragmento o análogo de la misma.

15 En algunos ejemplos, la lipidación puede incluir fluoración. La fluoración puede incluir la adición de una o más cadenas C_6F_{13} . Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que la presencia de una o más cadenas C_6F_{13} puede permitir que una entidad lipídica se separe de los componentes de la membrana lipídica de hidrocarburos (véase J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 9037-9043; J. Phys. Chem. B, 2008, 112, 8250-8256; J. Am. Chem. Soc., 2009, 131, 12091-12093).

20 En algunos ejemplos, la presencia de al menos un alqueno en la estructura de una entidad lipídica proporciona una fluidez incrementada en una membrana (es decir, una mayor capacidad para moverse dentro de la membrana) en comparación con entidades lipídicas similares que carecen de al menos un alqueno. En algunos ejemplos, una entidad lipídica con mayor fluidez puede proporcionar una actividad potenciada hacia objetivos (por ejemplo, receptores, canales iónicos o enzimas) con una baja densidad en una membrana. Sin desear limitarse a ninguna teoría, es posible que las entidades lipídicas con capacidad incrementada para moverse dentro de una membrana puedan encontrar un objetivo de baja densidad más rápido que una entidad lipídica con menos movilidad dentro de una membrana.

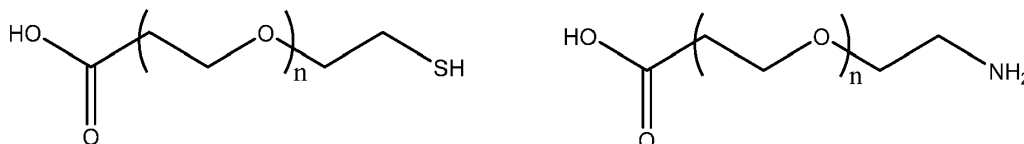
25 La composición de la presente divulgación puede comprender opcionalmente un enlazante que enlaza la entidad lipídica a la quemerina o al fragmento o análogo de la misma. Por ejemplo, el enlazante puede tener una longitud de entre aproximadamente 2 Å y 175 Å, inclusive. En algunos ejemplos, un enlazante está entre 30 Å y 150 Å, inclusive.

30 En algunos ejemplos, el enlazante puede comprender un péptido. En algunos ejemplos, un enlazante peptídico está entre 2 y 20 residuos de aminoácidos en longitud. En algunos ejemplos, un enlazante peptídico está entre 5 y 10 residuos de aminoácidos en longitud. De acuerdo con diversos ejemplos, los enlazantes peptídicos pueden diseñarse de tal manera que se formen una o más α -hélices entre la quemerina o un fragmento o análogo de esta y una entidad lipídica. En algunos ejemplos, un enlazante peptídico puede comprender una pluralidad de α -hélices. En algunos ejemplos, la pluralidad de α -hélices es consecutiva. En algunos ejemplos, una pluralidad de α -hélices son 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 o más α -hélices.

35 En algunos ejemplos, un enlazante peptídico puede comprender unidades repetitivas, por ejemplo, una pluralidad de unidades repetitivas de glicina-asparagina (GN). En algunos ejemplos, un enlazante peptídico puede comprender una etiqueta de epítipo (por ejemplo, una etiqueta c-Myc) u otro marcador para permitir la identificación y/o caracterización de los agentes proporcionados y su destino in vitro y/o in vivo.

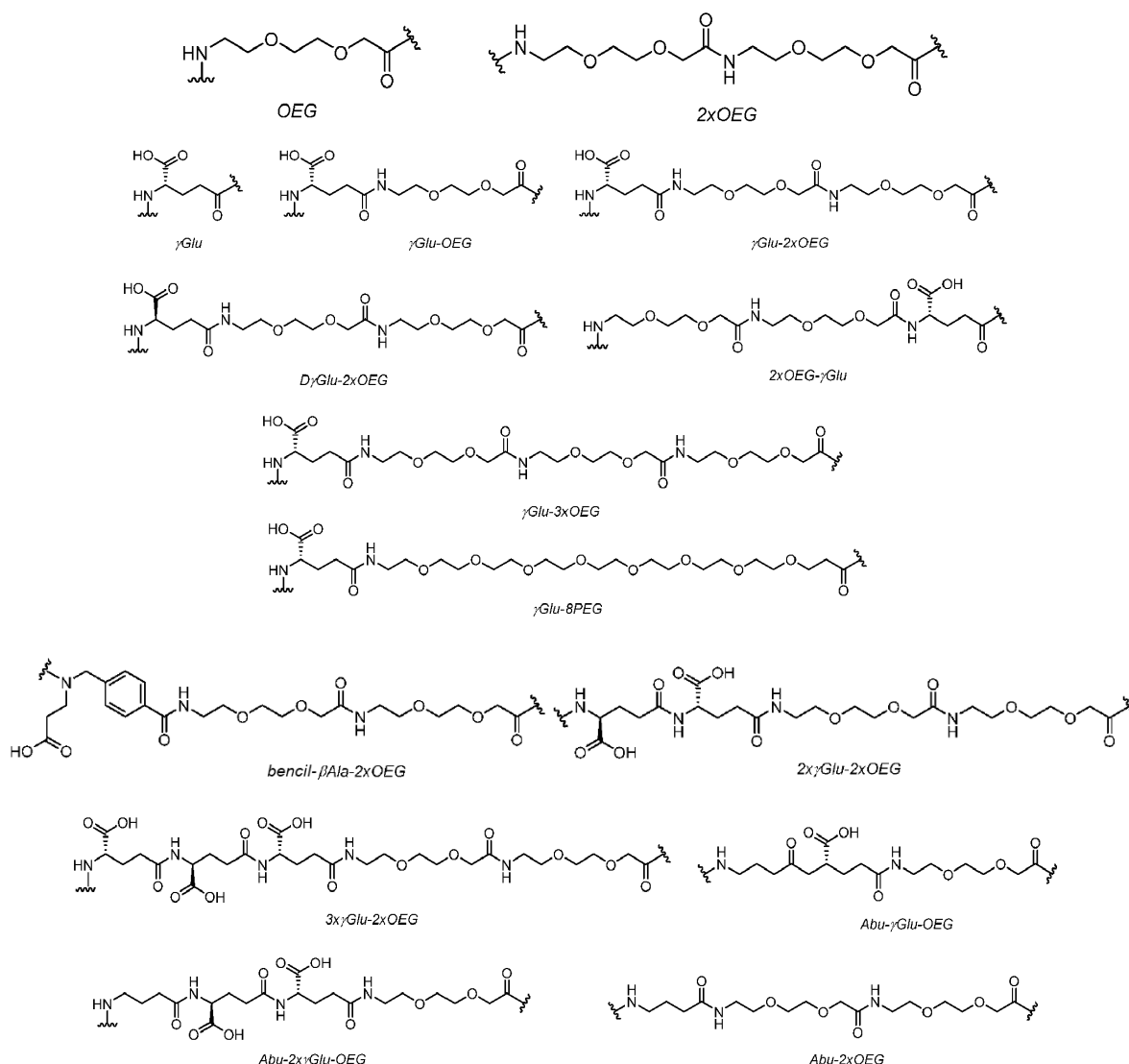
40 En algunos ejemplos, el enlazante puede comprender una entidad no peptídica. En algunos ejemplos, los enlazantes no peptídicos pueden ser un polímero sintético. De acuerdo con diversos ejemplos, el polímero sintético puede ser cualquiera de una variedad de longitudes. En algunos ejemplos, un enlazante que comprende un polímero sintético comprende una unidad monomérica del polímero. En algunos ejemplos, un enlazante que comprende un polímero sintético comprende dos o más unidades monoméricas de un polímero sintético (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100 o más unidades monoméricas).

45 En algunos ejemplos, un enlazante puede comprender al menos una molécula de polietilenglicol (PEG). Ejemplos específicos y no limitantes de enlazantes poliméricos adecuados incluyen enlazantes con una o más unidades monoméricas de acuerdo con una de las siguientes fórmulas:



donde n representa un entero mayor o igual que 1. En algunos ejemplos, n es un entero entre 2 y 50, 4 y 24, y/u 8 y 24, inclusive.

En algunos ejemplos, el enlazante puede tener cualquiera de las siguientes estructuras:



5

10

15

20

25

En algunos ejemplos, un enlazante puede comprender 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC), benzofenona-4-isotiocianato, bis-((N-yodoacetil)piperazinil)sulfonerhodamina, succinimidil 2-(2-piridilditio)Propionato (SPDP), ácido 4-azido-2,3,5,6-tetrafluorobenzoico (ATFB), (N-((2-piridilditio)etil)-4-azidosalicilamida), succinimidil trans-4-(maleimidilmetil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC) y/o ácido N-(t-BOC) -aminoxiacético. Los expertos en la técnica podrán identificar enlazantes candidatos adicionales de acuerdo con métodos conocidos.

En algunos ejemplos, un enlazante puede comprender un péptido y una entidad no peptídica.

En algunos ejemplos, se forma un enlazante, al menos en parte, como resultado de una reacción click como se divulga más adelante. En algunos ejemplos, la reacción click es una reacción de cicloadición azida-alquino de Huisgen.

Se pueden encontrar ejemplos adicionales de entidades lipídicas, enlazantes y métodos de lipidación en el documento US20160052982.

La composición de la presente divulgación puede formularse en una composición farmacéutica, que puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las técnicas para la formulación de las composiciones divulgadas se pueden encontrar en Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). La composición farmacéutica puede formularse para una variedad de rutas de administración.

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica puede formularse para administración tópica. Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen, pero no se limitan a, preparaciones líquidas y/o semilíquidas tales como linimentos, lociones, aceite en agua y/o emulsiones de agua en aceite tales como cremas, ungüentos y/o pastas, y/o soluciones y/o suspensiones. Las formulaciones administrables tópicamente pueden, por ejemplo, comprender de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (p/p) de ingrediente activo, aunque la concentración de ingrediente activo puede ser tan alta como el límite de solubilidad del ingrediente activo en el disolvente. Las formulaciones para administración tópica pueden comprender además uno o más de los ingredientes adicionales.

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica puede formularse para administración oral. Las formulaciones orales que contienen la composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden formularse en cualquier forma oral usada convencionalmente, que incluye: tabletas, cápsulas, píldoras, grageas, comprimidos para deshacer en la boca, pastillas, obleas, pellas, goma de mascar medicada, gránulos, polvos a granel, polvos o gránulos efervescentes o no efervescentes, soluciones, emulsiones, suspensiones, soluciones, galletas, gránulos para espolvorear, elíxires, jarabes, formas bucales y líquidos orales. Las cápsulas pueden contener mezclas de los compuestos activos con agentes de relleno inertes y/o diluyentes tales como los almidones farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, almidón de maíz, patata o tapioca), azúcares, agentes edulcorantes artificiales, celulosas en polvo, como celulosas cristalinas y microcristalinas, harinas, gelatinas, gomas, etc. Las formulaciones de tabletas útiles pueden prepararse mediante métodos de compresión convencional, granulación en húmedo o granulación en seco y utilizar diluyentes, aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, agentes modificadores de la superficie farmacéuticamente aceptables (incluidos los surfactantes), agentes de suspensión o estabilizantes, que incluyen, pero no se limitan a, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, laurilsulfato de sodio, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa de calcio, polivinilpirrolidona, gelatina, ácido alginico, goma de acacia, goma de xantano, citrato de sodio, silicatos complejos, carbonato de calcio, glicina, dextrina, sacarosa, sorbitol, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, lactosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, talco, almidones secos y azúcar en polvo. En algunos ejemplos son agentes modificadores de superficie que incluyen agentes modificadores de superficie no iónicos y aniónicos. Por ejemplo, los agentes modificadores de la superficie incluyen, pero no se limitan a, poloxámero 188, cloruro de benzalconio, estearato de calcio, alcohol cetosteárico, cera emulsionante de cetomacrogol, ésteres de sorbitán, dióxido de silicio coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sodio, silicato de aluminio y magnesio, y trietanolamina. Las formulaciones orales en el presente documento pueden utilizar formulaciones estándar de liberación retardada o en tiempo para alterar la absorción de los compuestos activos. La formulación oral también puede consistir en administrar el ingrediente activo en agua o un zumo de fruta, que contenga solubilizantes o emulsionantes apropiados según sea necesario.

Métodos de tratamiento

Las composiciones descritas en el presente documento pueden usarse para tratar una variedad de afecciones inflamatorias que incluyen, pero no se limitan a, inflamación ocular, enfermedad del ojo seco (DED) y dolor neuropático ocular.

La presente divulgación también proporciona un método para tratar una afección inflamatoria en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica de la presente divulgación o una composición que comprende quemerina o un fragmento o análogo de la misma.

En algunos ejemplos, la condición inflamatoria es la inflamación ocular. En algunos ejemplos, la inflamación ocular es la uveítis. La uveítis es un amplio rango de enfermedades inflamatorias del ojo, específicamente la úvea. Hay 3 capas básicas del ojo - la esclerótica y la córnea en el exterior, la retina en el interior y la úvea en el medio. La úvea se compone principalmente de vasos sanguíneos y tejido conectivo, incluidas las células pigmentadas. Las diferentes partes de la úvea son el iris en el frente, el cuerpo ciliar en el medio y la coroides ubicada detrás de estos, que se encuentra alrededor de la mayor parte del ojo. A veces, la uveítis puede afectar otras partes del ojo que no sean la úvea, tal como la retina, el vítreo o el nervio óptico. Los tipos de uveítis se basan en qué parte del ojo está afectada. Por ejemplo, la uveítis anterior es la inflamación en la parte frontal del ojo, llamada iritis o iridociclitis; La uveítis intermedia es la inflamación en la parte media del ojo, o pars planitis o vitritis; La uveítis posterior es la inflamación de la parte posterior del ojo, tal como coroiditis, vasculitis retiniana, retinitis, neuroretinitis, retinocoroiditis o coriorretinitis.

Los síntomas de la uveítis comúnmente incluyen enrojecimiento, visión borrosa, dolor, sensibilidad a la luz y flotadores y destellos.

La inflamación ocular se puede diagnosticar mediante una revisión del historial de la enfermedad, un examen con lámpara de hendidura, análisis de sangre o cualquier combinación de los mismos.

Las terapias actuales para tratar la inflamación ocular incluyen agentes anti-citoquinas o antiinflamatorios administrados localmente. En algunos ejemplos, la composición farmacéutica de la presente divulgación o una composición que comprende quemerina o un fragmento o análogo de la misma se puede administrar en combinación con una anti-citoquina o un agente antiinflamatorio para tratar la inflamación ocular.

Los agentes anti-citoquinas o antiinflamatorios incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de NF Kappa B, por ejemplo corticosteroides, glucocorticoides tales como flucinolona; medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) tales como sulindac y tepoxalina; antioxidantes tales como ditiocarbamato; y otros compuestos tales como sulfasalazina [ácido 2-hidroxi-5-[4-[C2-piridinilamino)sulfoni]azo]ácido], clonidina y productos derivados de la sangre autólogos tales como Orthokine.

En algunos ejemplos, la condición inflamatoria es DED. La DED es causada principalmente por la descomposición de la película lagrimal precocular que resulta en la deshidratación de la superficie externa expuesta. Las personas con DED pueden experimentar ojos irritados, arenosos, picantes o ardientes; un sentimiento de algo en sus ojos; exceso de riego; y visión borrosa. La definición y clasificación de DED se puede encontrar en "The Definition and Classification

of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the Dry Dry Eye Workshop (2007)", Ocular Surface 2007, vol. 5, 75-92.

La DED puede diagnosticarse mediante un examen ocular completo. Las pruebas, con énfasis en la evaluación de la cantidad y la calidad de las lágrimas producidas por los ojos, pueden incluir: (a) historial del paciente para determinar los síntomas del paciente y observar cualquier problema general de salud, medicamentos o factores ambientales que puedan estar contribuyendo a problema de ojo seco; (b) examen externo del ojo, incluida la estructura del párpado y la dinámica del parpadeo; (c) evaluación de los párpados y la córnea utilizando luz brillante y aumento; y (d) medición de la cantidad y calidad de las lágrimas por cualquier anomalía. Se pueden aplicar tintes especiales en los ojos para observar mejor el flujo lagrimal y para resaltar cualquier cambio en la superficie externa del ojo causado por lagrimeo insuficiente.

Sin desear limitarse a ninguna teoría, existe una justificación de que la inflamación ocular como resultado de las citoquinas proinflamatorias y los factores de crecimiento juegan un papel importante en las causas subyacentes de la DED. Como tal, los agentes anti-citoquinas o antiinflamatorios administrados localmente se usan a menudo en el tratamiento de la DED. En algunos ejemplos, la composición farmacéutica de la presente divulgación o una composición que comprende quemerina o un fragmento o análogo de la misma puede administrarse en combinación con una anti-citoquina o un agente antiinflamatorio para tratar la DED.

En algunos ejemplos, la afección inflamatoria es el dolor neuropático ocular. El dolor neuropático ocular puede ser causado por inflamación. Por lo tanto, puede tratarse mediante la composición farmacéutica de la presente divulgación, opcionalmente en combinación con un agente anti-citoquina o antiinflamatorio. El dolor neuropático tiene síntomas típicos como disestesias (dolor ardiente espontáneo o evocado, a menudo con un componente lancinante superpuesto), pero el dolor también puede ser profundo y doloroso. También se pueden presentar otras sensaciones como hiperestesia, hiperalgesia, alodinia (dolor debido a un estímulo normoxioso) e hiperpatía (particularmente una respuesta de dolor exagerada y desagradable).

Los métodos para diagnosticar la inflamación en el ojo se pueden encontrar en Teoh y Dick, "Diagnostic techniques for inflammatory eye disease: past, present and future: a review," BMC Ophthalmology 2013, 13:41.

Con respecto a las terapias de combinación que implican un primer agente terapéutico (por ejemplo, una composición farmacéutica de la presente divulgación o una composición que comprende quemerina o un fragmento o análogo de la misma) y un segundo agente terapéutico (por ejemplo, un agente anti-citoquina o antiinflamatorio), el primer agente terapéutico puede administrarse simultáneamente con el segundo agente terapéutico; el primer agente terapéutico puede administrarse antes que el segundo agente terapéutico; o el primer agente terapéutico puede administrarse después del segundo agente terapéutico. Las administraciones del primer y segundo agente terapéutico se pueden separar por minutos u horas, por ejemplo, aproximadamente una hora, dos horas, tres horas, cuatro horas, cinco horas o seis horas.

La cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de acuerdo con esta divulgación puede variar dentro de amplios límites y puede determinarse de una manera conocida en la técnica. Por ejemplo, la composición se puede dosificar de acuerdo con el peso corporal. Tal dosificación se ajustará a los requisitos individuales en cada caso particular, incluidos los compuestos específicos que se administran, la ruta de administración, la afección que se está tratando y el paciente que se está tratando. En otro ejemplo, el fármaco puede administrarse mediante dosis fijas, por ejemplo, dosis no ajustadas de acuerdo con el peso corporal. En general, una dosificación diaria de aproximadamente 0.5 mg a aproximadamente 1000 mg debería ser apropiada, aunque el límite superior puede excederse cuando se indique. La dosificación puede ser de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por día, por ejemplo, aproximadamente 5 mg a aproximadamente 400 mg, aproximadamente 5 mg a aproximadamente 300 mg, aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg. La dosificación diaria se puede administrar como una dosis única o en dosis divididas, o para administración parenteral se puede administrar como infusión continua. La composición farmacéutica o una composición que comprende quemerina o un fragmento o análogo de la misma se puede administrar una vez al día, o varias veces al día, por ejemplo, dos veces al día, o tres veces al día.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición es la que proporciona una mejora objetivamente identificable según lo observado por el médico u otro observador calificado.

En algunos ejemplos, una cantidad terapéuticamente efectiva para tratar la inflamación ocular es una cantidad que reduce el grado de inflamación en el sujeto en al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90% o al menos 95% en comparación con un placebo.

En algunos ejemplos, una cantidad terapéuticamente efectiva para tratar la DED es una cantidad que incrementa la producción de lágrimas en el sujeto en al menos 10%, al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100% o al menos 150% en comparación con un placebo.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para la administración. Las composiciones descritas en el presente documento pueden administrarse por vía oral, nasal, transdérmica, pulmonar, inhalatoria, bucal, sublingual, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intravenosa,

rectal, intrapleural, intratecal, tópica o parenteral. En un ejemplo, la composición se administra por vía tópica. Por ejemplo, la composición se administra en forma de gotas para los ojos. Un experto en la técnica reconocerá las ventajas de ciertas rutas de administración.

5 El régimen de dosificación que utiliza las composiciones descritas en el presente documento se selecciona de acuerdo con una variedad de factores que incluyen especies, origen étnico, edad, peso, sexo y condición médica del paciente; la severidad de la condición a ser tratada; la ruta de administración; la función renal y hepática del paciente; y la composición particular empleada. Un médico o veterinario con experiencia normal en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva del fármaco requerida para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.

10 Definiciones

Los términos "péptido", "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento y típicamente se refieren a una molécula que comprende una cadena de dos o más aminoácidos (por ejemplo, más típicamente L-aminoácidos, pero que también incluye, por ejemplo, D-aminoácidos, aminoácidos modificados, análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos). Los péptidos pueden ser de origen natural, producidos sintéticamente o expresados de forma recombinante. Los péptidos también pueden comprender grupos adicionales que modifican la cadena de aminoácidos, por ejemplo, grupos funcionales añadidos mediante modificación postraduccional. Ejemplos de modificaciones posteriores a la traducción incluyen, pero no se limitan a, acetilación, alquilación (incluida la metilación), biotinilación, glutamilación, glicilación, glicosilación, isoprenilación, lipoilación, fosfopantetetilación, fosforilación, selenación y amidación C-terminal. El término péptido también incluye péptidos que comprenden modificaciones del término amino y/o el término carboxilo. Las modificaciones del grupo amino terminal incluyen, pero no se limitan a, modificaciones des-amino, N-alquilo inferior, N-di-alquilo inferior y N-acilo. Las modificaciones del grupo carboxilo terminal incluyen, pero no se limitan a, modificaciones de amida, alquilamida inferior, dialquilamida y éster de alquilo inferior (por ejemplo, en donde alquilo inferior es alquilo C₁-C₄). El término péptido también incluye modificaciones, tales como, pero no limitadas a, las divulgadas anteriormente, de aminoácidos que caen entre los terminales amino y carboxi. El término péptido también puede incluir péptidos modificados para incluir uno o más marcadores detectables.

La expresión "residuo de aminoácido" como se usa en el presente documento se refiere a un aminoácido que se incorpora en un péptido mediante una unión amida o un mimético de unión amida.

30 El aminoácido terminal en un extremo de la cadena peptídica típicamente tiene un grupo amino libre (es decir, el terminal amino o N terminal). El aminoácido terminal en el otro extremo de la cadena típicamente tiene un grupo carboxilo libre (es decir, el terminal carboxilo o el terminal C). Típicamente, los aminoácidos que forman un péptido están numerados en orden, comenzando en el término amino y aumentando en la dirección del término carboxi del péptido.

35 Como se usa en el presente documento, el término "análogo" se refiere a un polipéptido variante o mutante que tiene una o más modificaciones de aminoácidos en comparación con el tipo silvestre.

40 Como se usa en el presente documento, una "modificación de aminoácidos" se refiere a un cambio en la secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos predeterminada. Las modificaciones de ejemplo incluyen una sustitución, inserción y/o delección de aminoácidos. Una "modificación de aminoácidos en" una posición especificada, por ejemplo de quemerina o un fragmento de la misma, se refiere a la sustitución o delección del residuo especificado, o la inserción de al menos un residuo de aminoácido adyacente al residuo especificado. Por inserción "adyacente" a un residuo especificado se entiende inserción en el intervalo de uno a dos residuos del mismo. La inserción puede ser N-terminal o C-terminal al residuo especificado.

45 Una "sustitución de aminoácidos" se refiere al reemplazo de al menos un residuo de aminoácidos existente en una secuencia de aminoácidos predeterminada con otro residuo de aminoácidos de "reemplazo" diferente. El residuo o residuos de reemplazo pueden ser "residuos de aminoácidos de origen natural" (es decir, codificados por el código genético) y seleccionados del grupo que consiste en: alanina (Ala); arginina (Arg); asparagina (Asn); ácido aspártico (Asp); cisteína (Cys); glutamina (Gln); ácido glutámico (Glu); glicina (Gly); histidina (His); isoleucina (Ile); leucina (Leu); lisina (Lys); metionina (Met); fenilalanina (Phe); prolina (Pro); serina (Ser); treonina (Thr); triptófano (Trp); tirosina (Tyr); y valina (Val). La sustitución con uno o más residuos de aminoácidos de origen no natural también está abarcada por la definición de una sustitución de aminoácidos en el presente documento. Un "residuo de aminoácidos de origen no natural" se refiere a un residuo, distinto de los residuos de aminoácidos de origen natural listados anteriormente, que puede unirse covalentemente a los residuos de aminoácidos adyacentes en una cadena de polipéptidos. Ejemplos de residuos de aminoácidos no naturales incluyen norleucina, ornitina, norvalina, homoserina y otros análogos de residuos de aminoácidos tales como los divulgados en Ellman et al. Meth. Enzym. 202:301-336 (1991). Para generar tales residuos de aminoácidos de origen no natural, pueden usarse los procedimientos de Noren et al. Science 244: 182 (1989) y Ellman et al., supra. En resumen, estos procedimientos implican la activación química de un ARNt supresor con un residuo de aminoácidos de origen no natural seguido de la transcripción y traducción in vitro del ARN. En algunos ejemplos, un L aminoácido también puede ser sustituido por un D aminoácido.

Una "inserción de aminoácidos" se refiere a la incorporación de al menos un aminoácido en una secuencia de aminoácidos predeterminada. Si bien la inserción usualmente consistirá en la inserción de uno o dos residuos de aminoácidos, la presente solicitud contempla "inserciones de péptidos" más grandes, por ejemplo inserción de aproximadamente tres a aproximadamente cinco o incluso hasta aproximadamente diez residuos de aminoácidos. Los residuos insertados pueden ser de origen natural o de origen no natural como se divulga más arriba.

Una "delección de aminoácidos" se refiere a la eliminación de al menos un residuo de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos predeterminada.

El término "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de un compuesto divulgado en el presente documento con otros componentes químicos, tales como diluyentes o vehículos. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. Las composiciones farmacéuticas también se pueden obtener haciendo reaccionar compuestos con ácidos inorgánicos u orgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar, tales como una solución salina regulada con fosfato, agua, emulsiones (por ejemplo, tales como emulsiones de aceite/agua o agua/aceite), y diversos tipos de agentes humectantes. Las composiciones también pueden incluir estabilizantes, conservantes y adyuvantes.

Como se usa en el presente documento, los términos "tratar", "tratando", "tratamiento" y similares se refieren a reducir o mejorar un trastorno y/o un síntoma asociado con el mismo. Se apreciará que, aunque no está excluido, el tratamiento de un trastorno o afección no requiere que el trastorno o síntoma asociado con el mismo se elimine por completo. Los términos "tratar", "tratando" o "tratamiento" no incluyen prevención.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar en cierta medida, uno o más de los síntomas del trastorno, enfermedad o afección que se está tratando. El término "cantidad terapéuticamente efectiva" también se refiere a la cantidad de un compuesto que es suficiente para provocar la respuesta biológica o médica de una célula, tejido, sistema, animal o humano que está siendo buscado por un investigador, veterinario, médico, o clínico.

Como se usa en el presente documento, un "sujeto" puede ser cualquier mamífero, por ejemplo, un humano, un primate no humano, un ratón, una rata, un perro, un gato, una vaca, un caballo, un cerdo, una oveja, una cabra o un camello. En un ejemplo preferido, el sujeto es un humano.

Como se usa en el presente documento, un "sujeto que lo necesita" es un sujeto que tiene una afección inflamatoria.

Como se usa en este documento, las formas singulares "un", "uno, una" y "el, la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a "un solvente" incluye una combinación de dos o más de tales solventes, la referencia a "un péptido" incluye uno o más péptidos, o mezclas de péptidos, la referencia a "un fármaco" incluye uno o más fármacos, La referencia a "un dispositivo" incluye uno o más dispositivos, y similares. A menos que se indique específicamente o sea obvio por el contexto, como se usa en el presente documento, se entiende que el término "o" es inclusivo y abarca tanto "o" como "y".

A lo largo de la especificación, se entenderá que la palabra "comprendiendo" o variaciones tales como "comprende" o "que comprende" implica la inclusión de un elemento, entero o etapa establecido, o grupo de elementos, enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro elemento, entero o etapa, o grupo de elementos, enteros o etapas.

A menos que se establezca específicamente o sea obvio a partir del contexto, como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" cuando se usa junto con valores numéricos y/o rangos generalmente se refiere a esos valores numéricos y/o rangos cercanos a un valor y/o rango numérico citado. En algunos casos, el término "aproximadamente" puede significar dentro de $\pm 10\%$ del valor citado. Por ejemplo, en algunos casos, "aproximadamente 100 [unidades]" puede significar dentro de $\pm 10\%$ de 100 (por ejemplo, de 90 a 110).

Ejemplos

Ejemplo 1

Abreviaturas: s-Chem 21-157 (quemerina humana recombinante soluble que corresponde a los aminoácidos 21-157); s-Chem 149-157 (9 aminoácidos C-terminales solubles de quemerina humana); 1-Chem 149-157 (9 aminoácidos C-terminales lipidados de la quemerina humana); Chem s-estable (péptido de quemerina estable soluble; Chem 1-estable (péptido de quemerina estable lipidado).

Una estrategia de tratamiento emergente para tratar el dolor neuropático es apuntar a los moduladores del proceso neuroinflamatorio que contribuye al dolor neuropático. Se han identificado previamente un análogo estable palmitoilado ("Chem9 estable en C16") derivado de un fragmento de 9 aminoácidos de quemerina. Este análogo se ancla a la membrana celular dando como resultado una alta potencia y actividad a largo plazo. Cuando se evaluó in vivo, la

5 palma sC9 alivió el dolor neuropático en un modelo de ratón de lesión por constricción crónica. Extendiéndose a partir de estas observaciones, se planteó la hipótesis de que las propiedades farmacológicas de nuestro péptido pueden ser optimizadas adicionalmente modificando el ancla lipídica. Se ha sintetizado químicamente una serie de análogos de Chem 9 con diversas colas de lípidos (por ejemplo, colesterol, ácido oleico, ácido linolénico). La caracterización farmacológica in vitro de cada péptido se realizó usando células HEK293 que expresan transitoriamente el CMKLR1 recombinante. Se ha encontrado que la variación de la cola lipídica del ligando altera significativamente la potencia agonista de los análogos de quemerina 9 (dentro de un rango de 30 veces). Adicionalmente, las colas lipídicas seleccionadas sesgan la unión bien sea a albúmina (potenciando así el suministro sistémico) o a la membrana celular (lo que favorece la función localmente restringida). Los ligandos CMKLR1 lipidados son prometedores como
10 moduladores del dolor neuropático. Además, los hallazgos de los inventores ilustran una metodología donde la adición/sustitución en serie de anclajes lipídicos se puede aplicar para optimizar las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas de muchos ligandos peptídicos.

El reclutamiento de β -Arrestina CMKLR1 se evaluó después de un tratamiento de 1 hora con análogos estables de Chem 9 (Figuras 9A-9D).

15 Quemerina, una proteína de 136 aminoácidos, puede truncarse a un péptido de 9 aminoácidos que está activo bien sea como un ligando enlazado a la membrana (MTL) o un péptido lipidado.

Una forma estabilizada de quemerina 9 lipitada actúa durante mucho tiempo en un modelo de ratón de dolor neuropático (Figuras 6A-6B).

20 La alteración de la cola lipídica de la quemerina 9 estabilizada altera las propiedades farmacológicas in vitro en parte al modificar la adherencia a la membrana plasmática y/o la unión a la albúmina sérica.

Los derivados de quemerina 9 lipitada pueden caracterizarse adicionalmente en un modelo CCI de dolor neuropático. Los análogos de quemerina 9 lipitada se pueden evaluar en otros modelos de inflamación en ratones, por ejemplo modelo de ácaros del polvo del asma. Los perfiles farmacocinéticos de los análogos de Quemerina 9 lipitada pueden compararse in vivo. Los péptidos lipidados pueden desarrollarse para otros objetivos que modulan la inflamación.

25 Tabla 1. Resumen de las potencias de los análogos de quemerina 9 lipitada estable. La transducción de señal de Gai canónica CMKLR1 mediada por ligando varía (potencias evaluadas +/-lavado y +/- albúmina).

Cola lipídica	EC50 (sin lavar0)	EC50 (lavado x3)	EC50 (BSA) (sin lavar)	EC50 (BSA) (lavado x3)
C16	2.7nM	18.6nM	6.4nM	520nM
C18:1	4.7nM	26.4nM	12.7	2862nM
C18:3	45.7nM	350nM	73.3nM	ND
C10	17.8nM	ND	17.8nM	ND
C4	79.3nM	ND	11nM	ND
C16:1	12.0nM	42.2	29.5	3143nM
C14:1	9.3nM	100nM	26.2nM	1821nM
Colesterol	84.5nm	445nM	108nM	13460nM
ninguna	35.2nM	ND	5.1nM	ND

Tabla 2. Potencias y eficacias de los análogos de quemerina estable lipitada.

Cola lipídica	EC50	Eficacia máxima (%chem9 s-Estable 10 μ M)
C16	3.23nM	164.8%

Cola lipídica	EC50	Eficacia máxima (%chem9 s-Estable 10µM)
C18:1	17.4nM	159.7%
C18:3	180.6nM	110.1%
C10	23.12nM	98.29%
C4	223.13nM	89.7%
C16:1	80.84nM	153.6%
C14:1	51.85nM	123.6%
Colesterol	131.2nM	149.3%
Ninguno	31.92nM	100%
C16-CKK4-NH ₂ (péptido no específico)	ND	ND

Ejemplo 2

Se evaluó la quemerina lipídada estable en modelos de ratones con DED e inflamación corneal.

5 En el modelo de ratón DED, se inyecta escopolamina 3 veces/día para disminuir la producción de lágrimas en ratones. Se utilizaron jaulas fenestradas y 4 ventiladores alrededor de la jaula que funcionan las 24 horas del día para inducir el estrés de desecación y la sequedad ocular. Se administra oTTx-010 a los ratones para evaluar la eficacia del tratamiento. El vehículo se administra como control. Los resultados muestran que el oTTx-010 tópico puede ser un tratamiento potencial para que la DED disminuya los síntomas y signos clínicos y mejore la tolerancia inmune (Figuras 11-14).

10 La cauterización térmica es un modelo de ratón de inflamación corneal (véase Arch Ophthalmol. 2003 Hamrah et al.). Los resultados muestran que oTTx-010 tópico se puede aplicar como un nuevo tratamiento para disminuir la inflamación en el ojo (Figura 15).

Listado de secuencias

<110> Tufts Medical Center

15 Trustees of Tufts College

Cohen, Charles

<120> COMPUESTOS Y MÉTODOS PARA TRATAR LA INFLAMACIÓN

<130> ONTG-003/001WO

<150> 62/286,070

20 <151> 2016-01-22

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 163

25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 805 037 T3

<400> 1

```

Met Arg Arg Leu Leu Ile Pro Leu Ala Leu Trp Leu Gly Ala Val Gly
 1           5                   10           15

Val Gly Val Ala Glu Leu Thr Glu Ala Gln Arg Arg Gly Leu Gln Val
          20                   25           30

Ala Leu Glu Glu Phe His Lys His Pro Pro Val Gln Trp Ala Phe Gln
          35                   40           45

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

Phe Val Arg Leu Glu Phe Lys Leu Gln Gln Thr Ser Cys Arg Lys Arg
65                   70           75           80

Asp Trp Lys Lys Pro Glu Cys Lys Val Arg Pro Asn Gly Arg Lys Arg
          85                   90           95

Lys Cys Leu Ala Cys Ile Lys Leu Gly Ser Glu Asp Lys Val Leu Gly
          100                  105           110

Arg Leu Val His Cys Pro Ile Glu Thr Gln Val Leu Arg Glu Ala Glu
115                  120           125

Glu His Gln Glu Thr Gln Cys Leu Arg Val Gln Arg Ala Gly Glu Asp
130                  135           140

Pro His Ser Phe Tyr Phe Pro Gly Gln Phe Ala Phe Ser Lys Ala Leu
145                  150           155           160

Pro Arg Ser
    
```

<210> 2

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

Tyr Phe Pro Gly Gln Phe Ala Phe Ser
 1           5
    
```

10 <210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Polipéptido artificial

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)
 <223> D-Tyr
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (5)..(5)
 <223> D-Ser
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 10 <223> D-Ala
 <220>
 <221> MOD_RES<222> (9)..(9)
 <223> ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico
 <400> 3

 Xaa Phe Leu Pro Xaa Gln Phe Xaa Xaa Ser
 15 1 5 10
 <210> 4
 <211> 137
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20 <400> 4

 Glu Leu Thr Glu Ala Gln Arg Arg Gly Leu Gln Val Ala Leu Glu Glu
 1 5 10 15

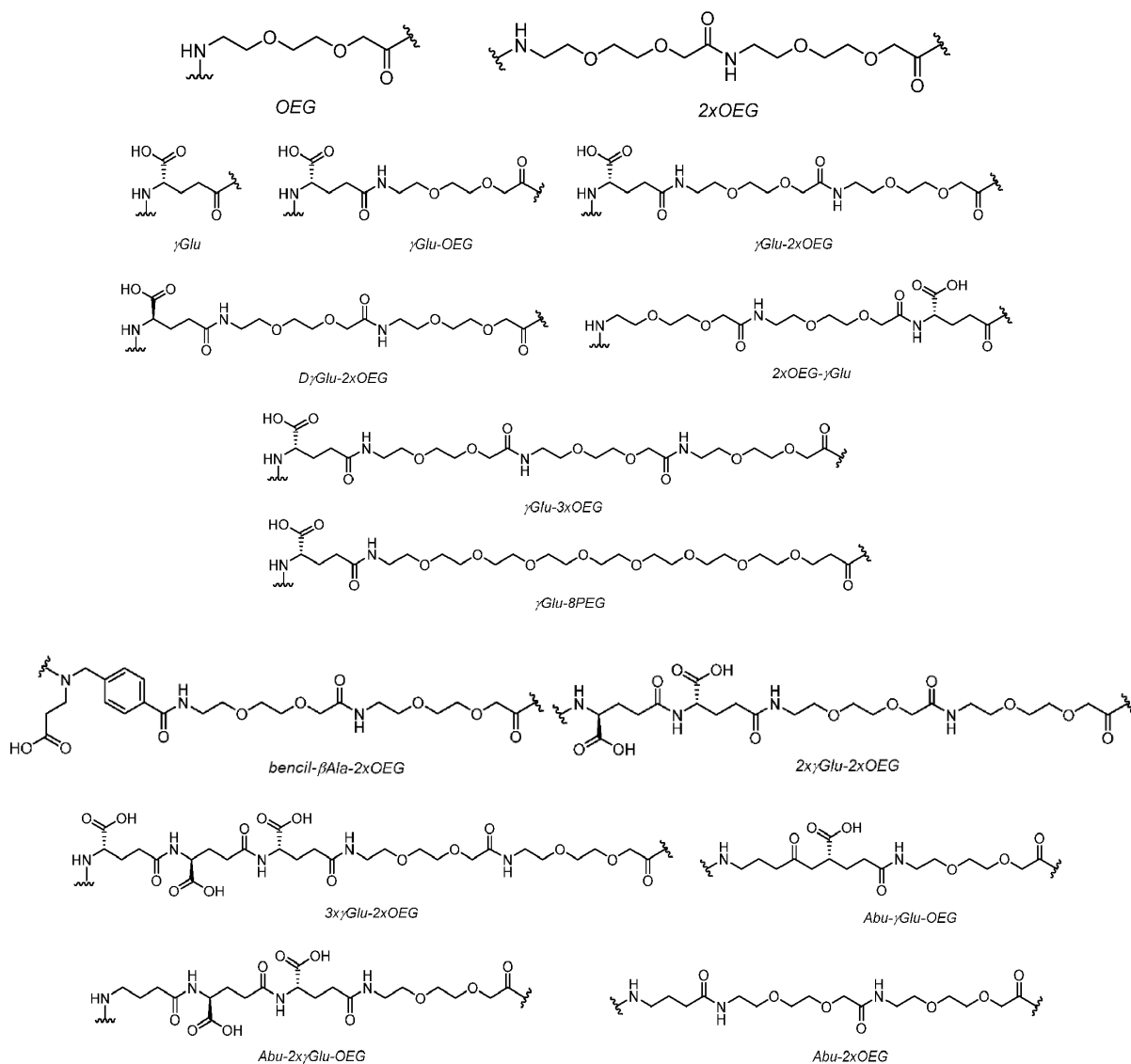
 Phe His Lys His Pro Pro Val Gln Trp Ala Phe Gln Glu Thr Ser Val

ES 2 805 037 T3

			20						25					30			
Glu	Ser	Ala	Val	Asp	Thr	Pro	Phe	Pro	Ala	Gly	Ile	Phe	Val	Arg	Leu		
		35					40					45					
Glu	Phe	Lys	Leu	Gln	Gln	Thr	Ser	Cys	Arg	Lys	Arg	Asp	Trp	Lys	Lys		
	50					55					60						
Pro	Glu	Cys	Lys	Val	Arg	Pro	Asn	Gly	Arg	Lys	Arg	Lys	Cys	Leu	Ala		
65					70					75				80			
Cys	Ile	Lys	Leu	Gly	Ser	Glu	Asp	Lys	Val	Leu	Gly	Arg	Leu	Val	His		
				85					90					95			
Cys	Pro	Ile	Glu	Thr	Gln	Val	Leu	Arg	Glu	Ala	Glu	Glu	His	Gln	Glu		
			100					105					110				
Thr	Gln	Cys	Leu	Arg	Val	Gln	Arg	Ala	Gly	Glu	Asp	Pro	His	Ser	Phe		
		115					120					125					
Tyr	Phe	Pro	Gly	Gln	Phe	Ala	Phe	Ser									
	130					135											

REIVINDICACIONES

1. Una composición para uso en un método para tratar la inflamación ocular en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición, en la que la composición comprende:
 - 5 un fragmento de quemerina que tiene la secuencia de YFPGQFAFS (SEQ ID NO.: 2) o un análogo de quemerina que tiene la secuencia de Y*FLPS*QFA*-Tic-S (SEQ ID NO.: 3), * que denota aminoácidos D, en donde Tic representa el ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico;
 - una entidad lipídica enlazada al fragmento de quemerina o análogo de quemerina; y
 - opcionalmente un enlazante que conecta la entidad lipídica al fragmento de quemerina o análogo de quemerina.
 - 10 2. La composición para uso, de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la inflamación ocular es la enfermedad del ojo seco o la uveítis.
 3. La composición para uso, de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el enlazante comprende polietilenglicol, un péptido o una combinación de los mismos.
 - 15 4. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el enlazante se selecciona del grupo que consiste en:



5. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la entidad lipídica se selecciona del grupo que consiste en ácido α -linolénico, ácido γ -linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido linoleico, ácido dihomo- γ -linolénico, ácido araquidónico, ácido
 - 25

- 5 docosatetraenoico, ácido palmitoleico, ácido vaccénico, ácido paulínico, ácido oleico, ácido elaídico, ácido gondoico, ácido erúcico, ácido nervónico, ácido de hidromiel, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), gangliósido GM1, gangliósido GM2, gangliósido GM3, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina (DOPS), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), un glicosfingolípido, un esfingolípido, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂), una ceramida, colesterol, ergosterol, fitosterol, un hopanoide y un esteroide.
6. La composición para uso, de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la entidad lipídica se selecciona del grupo que consiste en ácido α -linolénico, ácido γ -linolénico, ácido palmítico, ácido vaccénico, ácido oleico y ácido elaídico.
- 10 7. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la entidad lipídica está enlazada en o cerca del terminal N del fragmento de quemerina o análogo de quemerina.
8. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la entidad lipídica está unida en o cerca del terminal C del fragmento de quemerina o análogo de quemerina.
9. La composición para uso, de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende palmitato-PEG₈KGG-H₂N-Y*FLPS*QFA*-Tic-S-COOH (SEQ ID NO: 3).
- 15 10. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que la composición se administra tópicamente.
11. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que la composición se administra una vez al día, dos veces al día o tres veces al día.
- 20 12. La composición para uso, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que el sujeto es un humano.
13. La composición para uso, de acuerdo con la reivindicación 10, en la que la composición se formula como un linimento, una loción, una crema, una pomada, una pasta, una solución o una suspensión.
14. La composición para uso, de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende aproximadamente 1% a 10% en peso del fragmento de quemerina o análogo de quemerina.
- 25

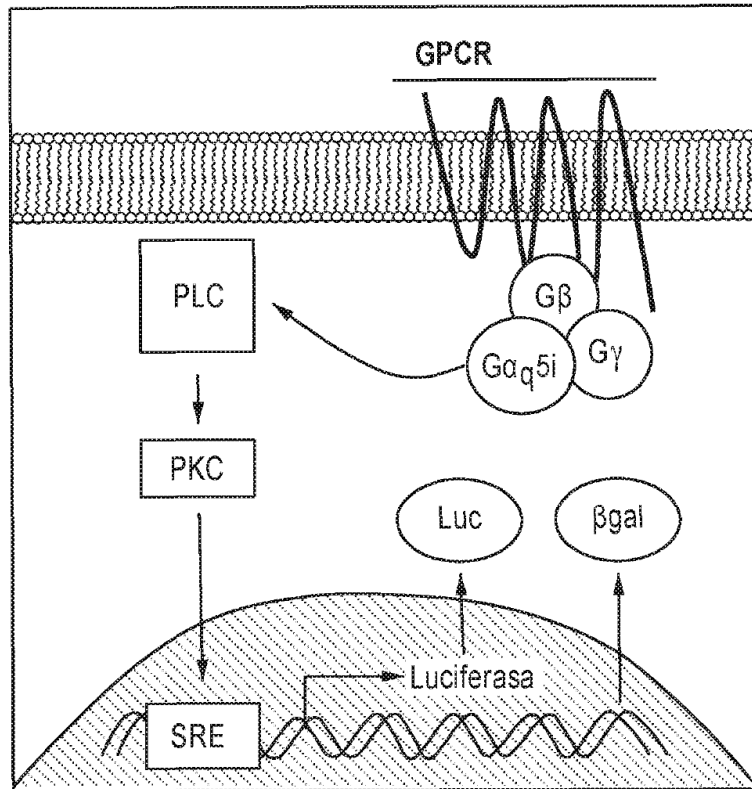


FIG. 1

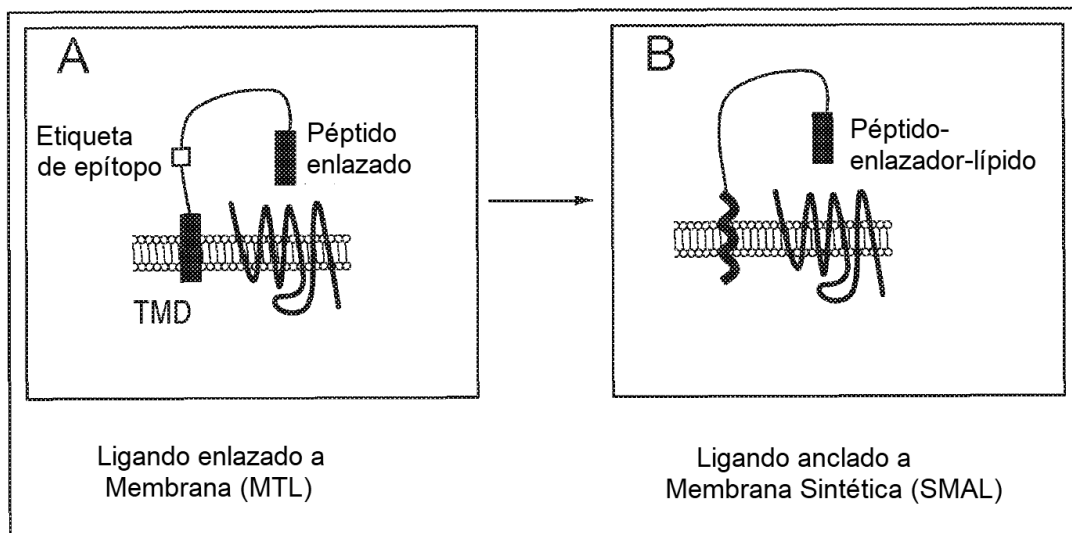


FIG. 2

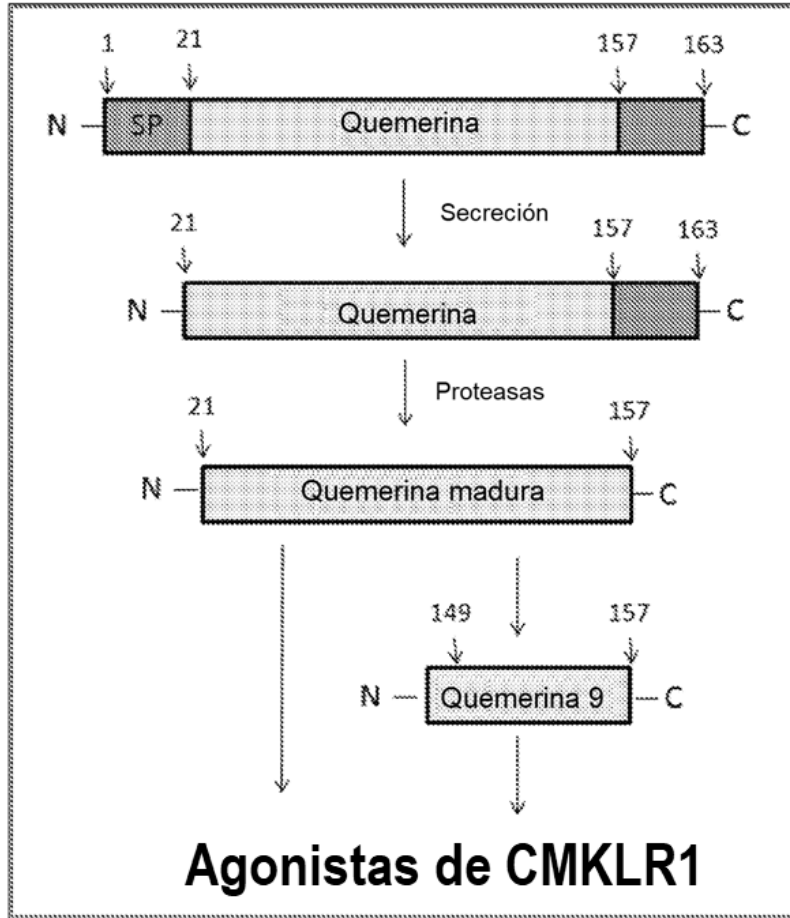


FIG. 3

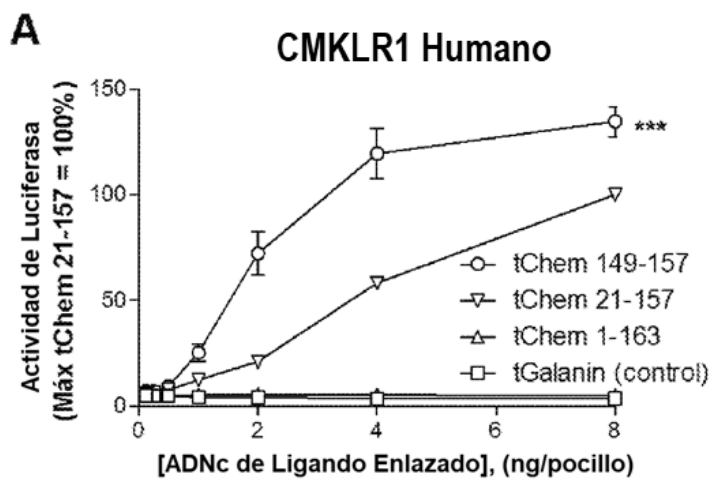


FIG. 4A

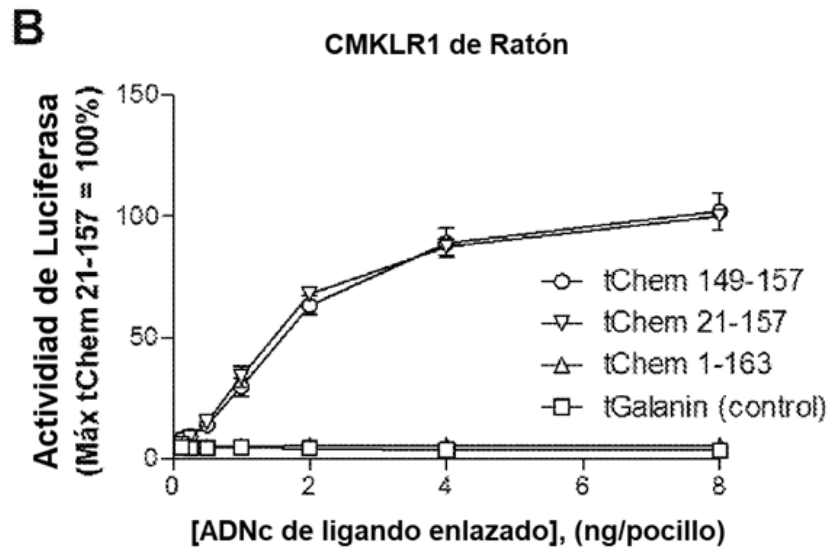


FIG. 4B

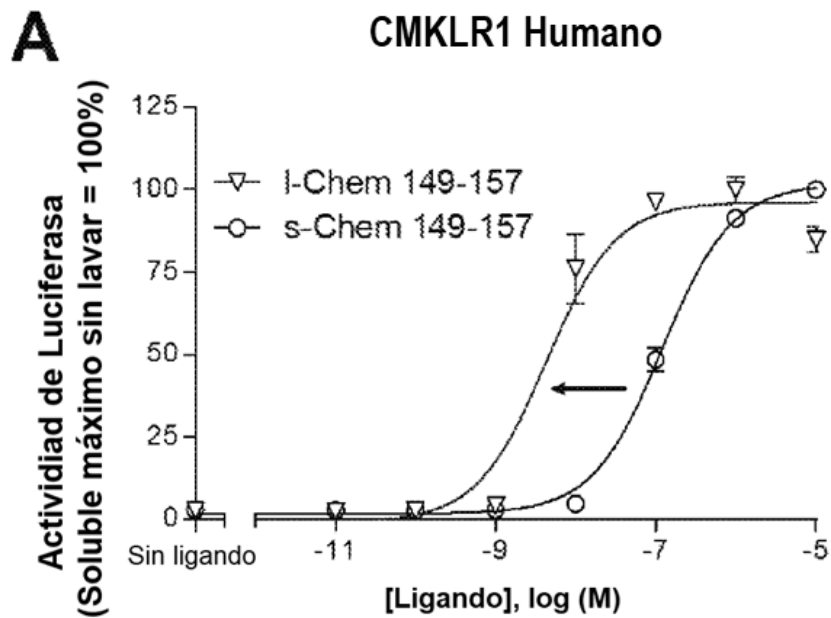


FIG. 5A

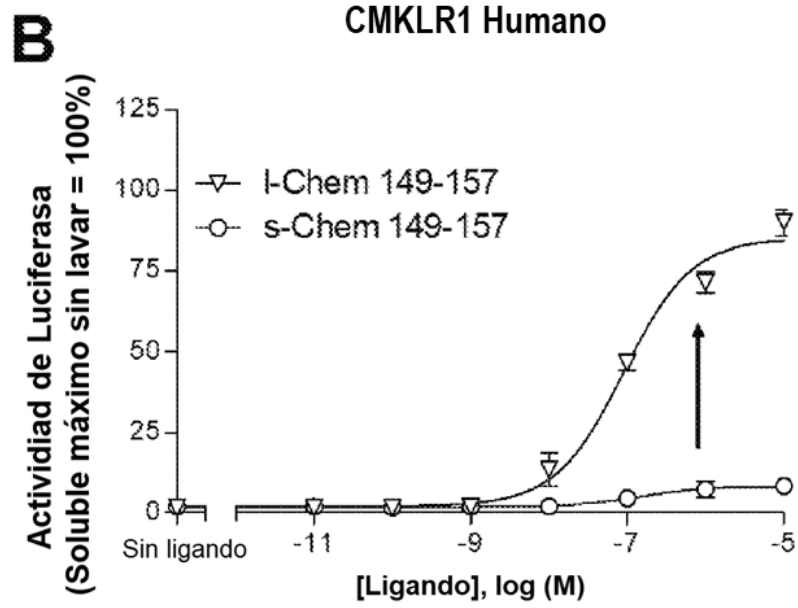


FIG. 5B

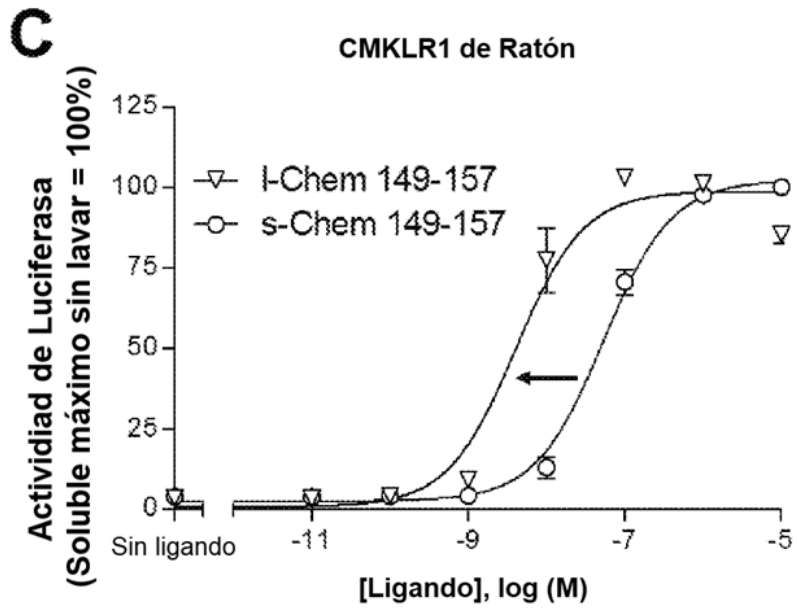


FIG. 5C

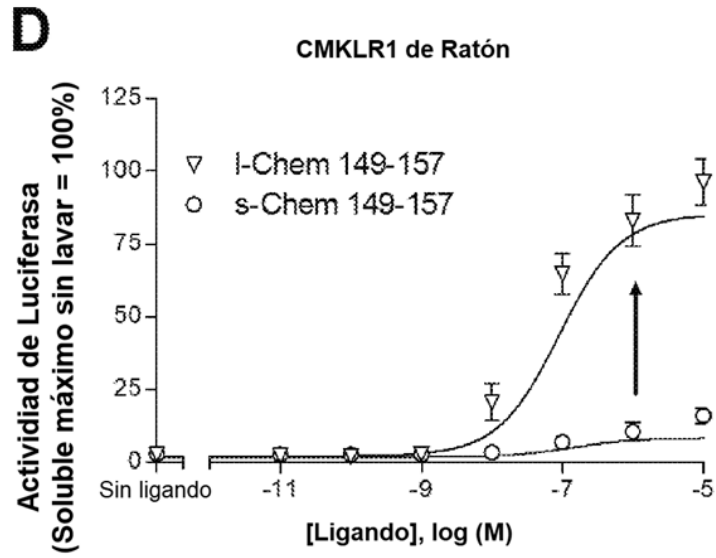
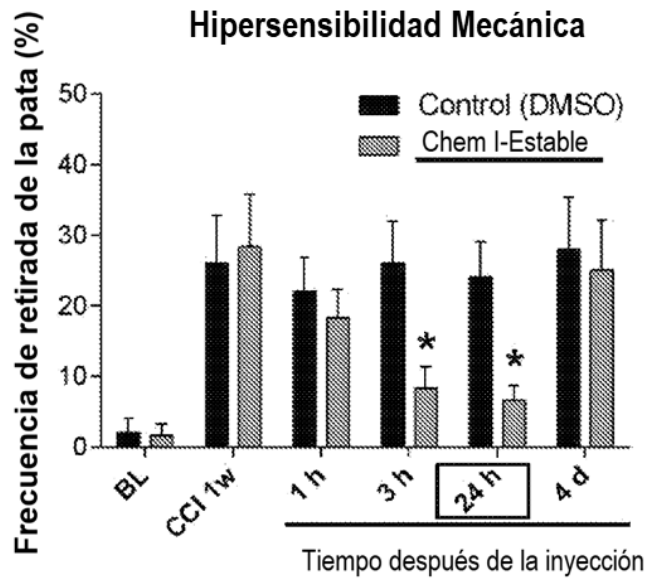
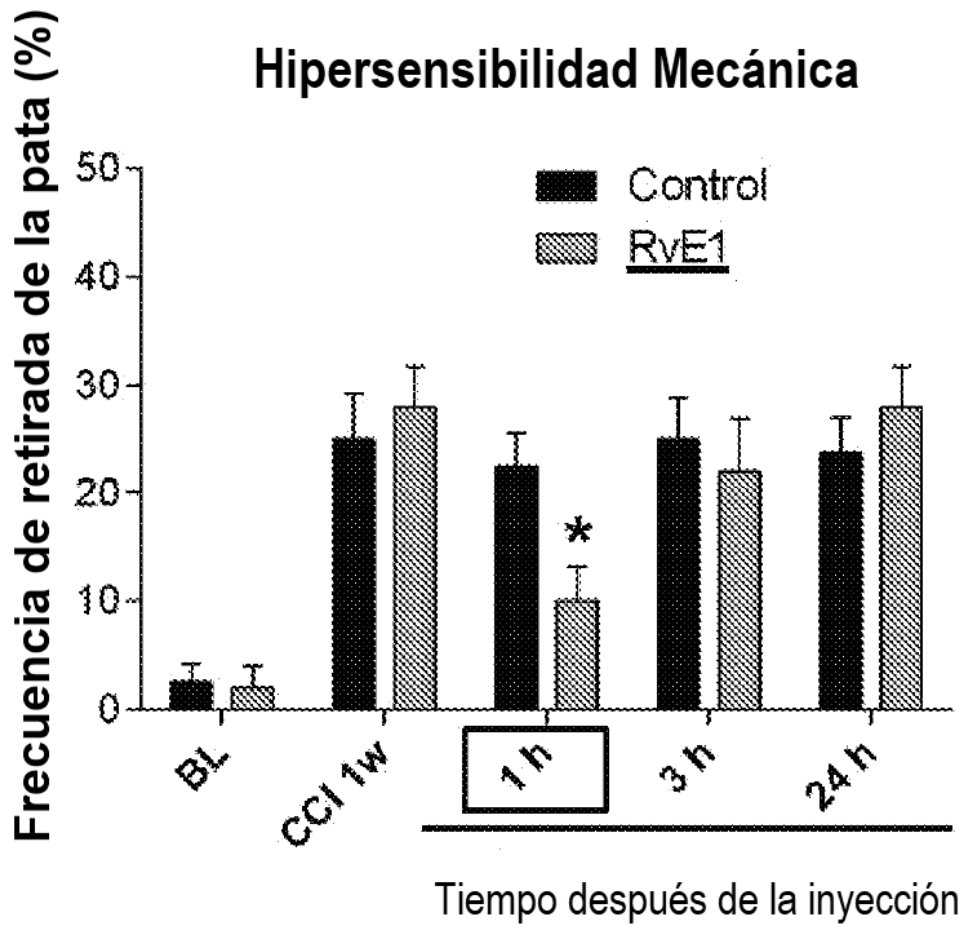


FIG. 5D



Chem9 C16-Estable

FIG. 6A



Resolvin E1

FIG. 6B

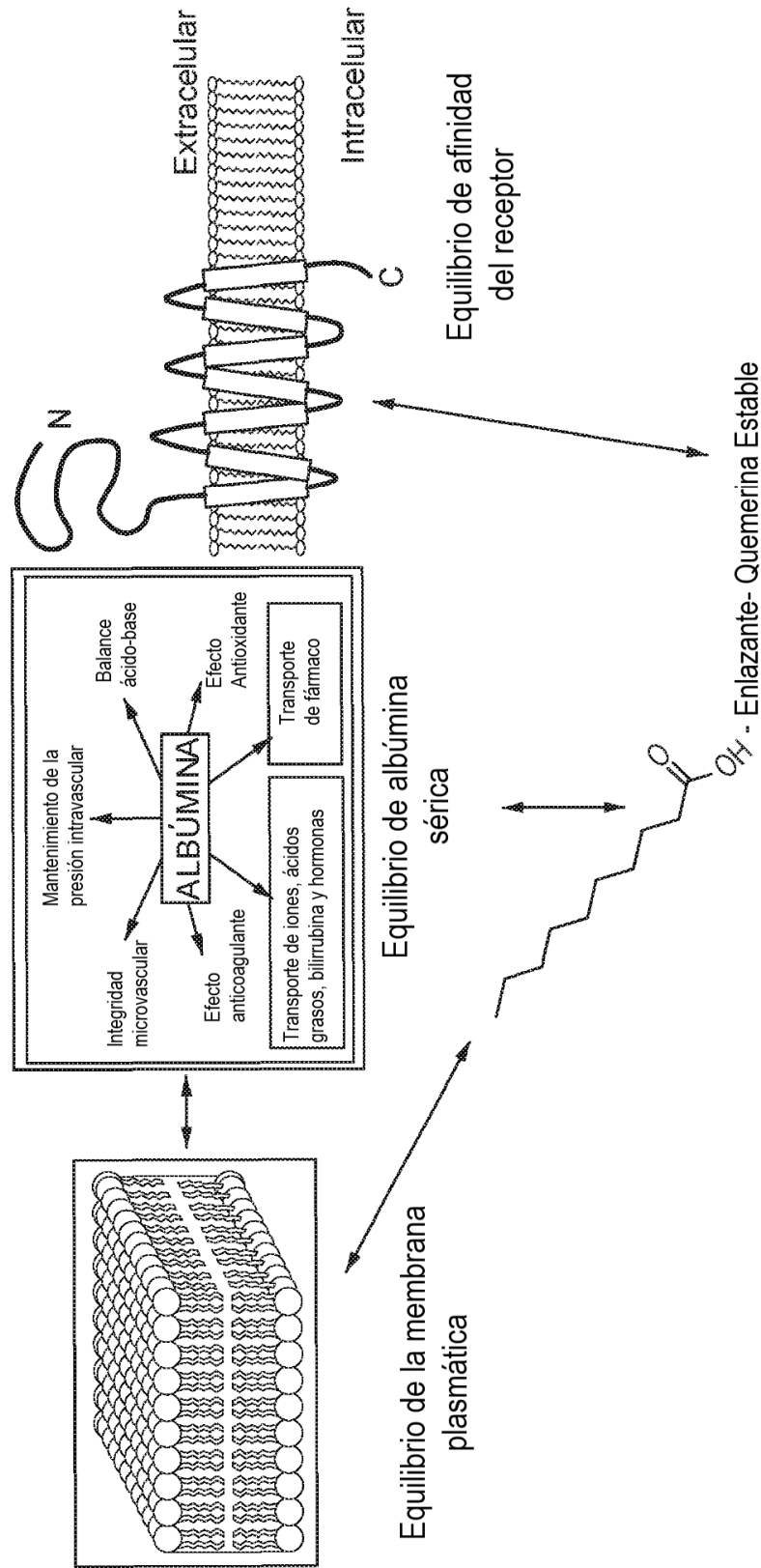


FIG. 7

Equilibrio de lípidos- membrana celular
sin BSA

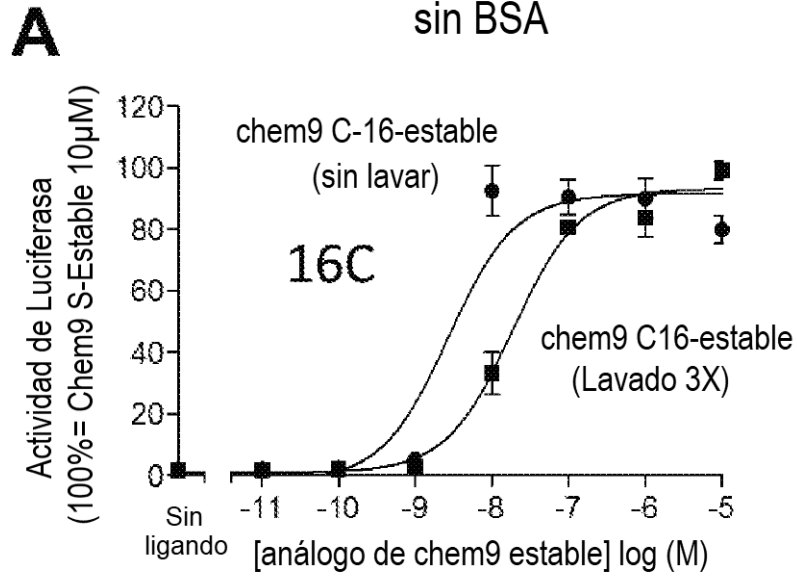


FIG. 8A

Equilibrio de lípidos- albúmina
BSA (4.5g/dL)

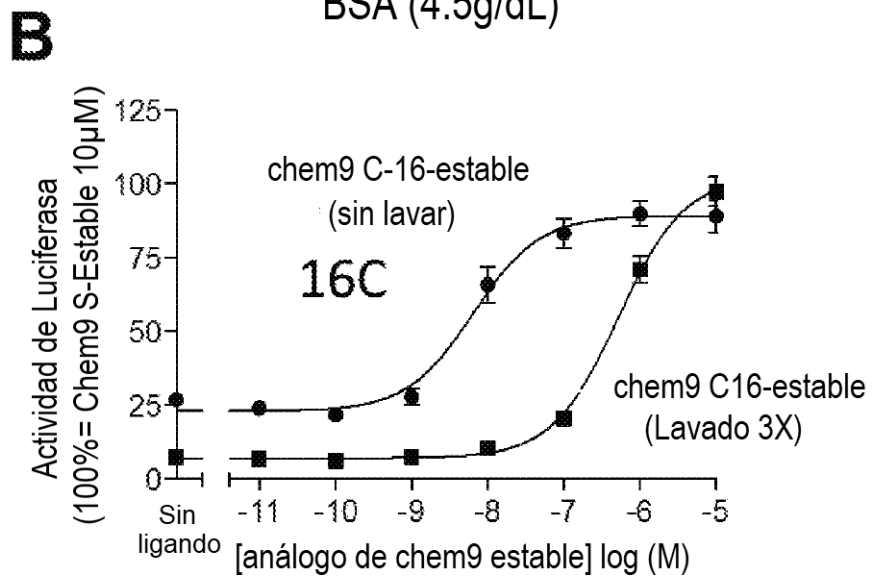


FIG. 8B

C

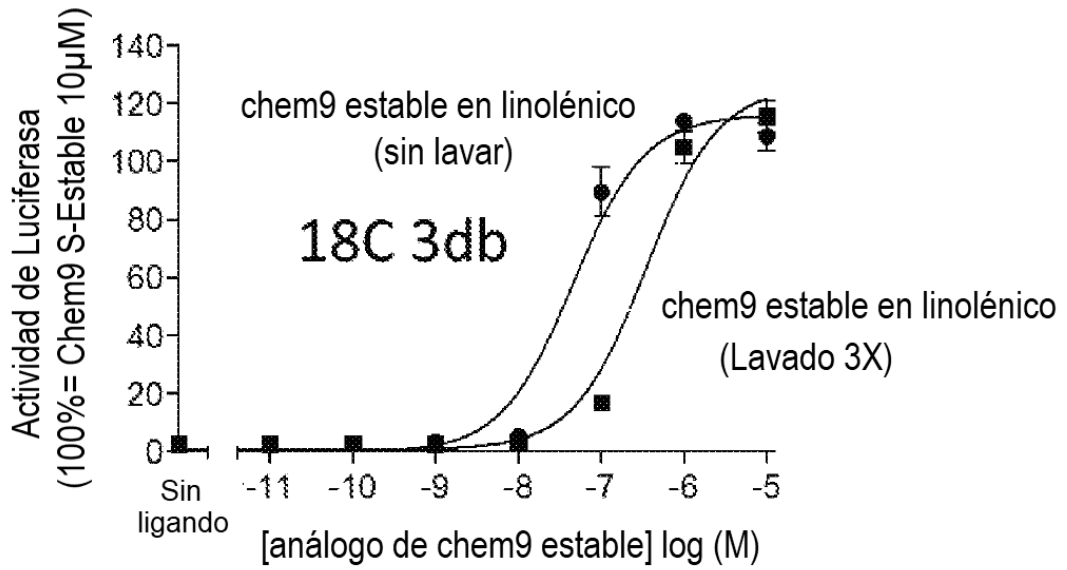


FIG. 8C

D

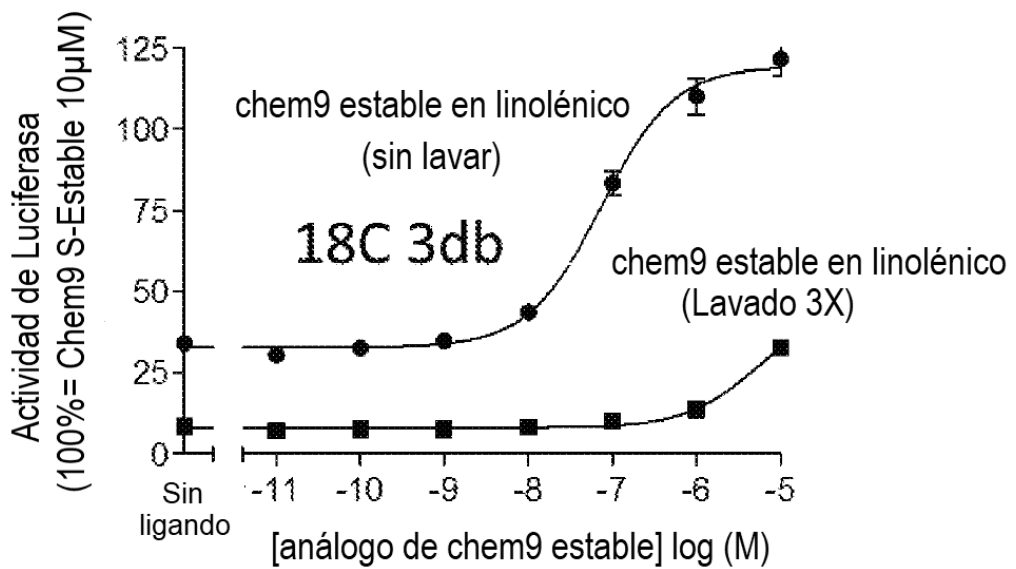


FIG. 8D

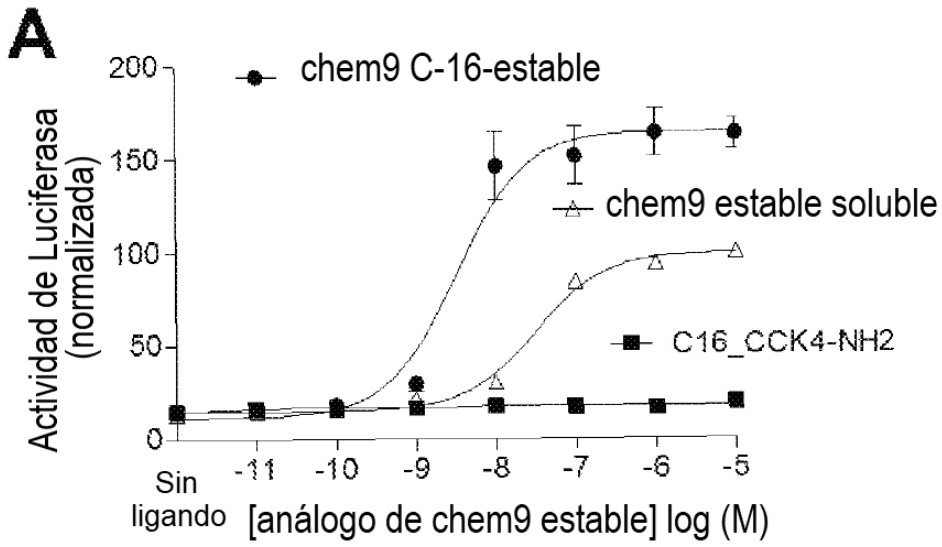


FIG. 9A

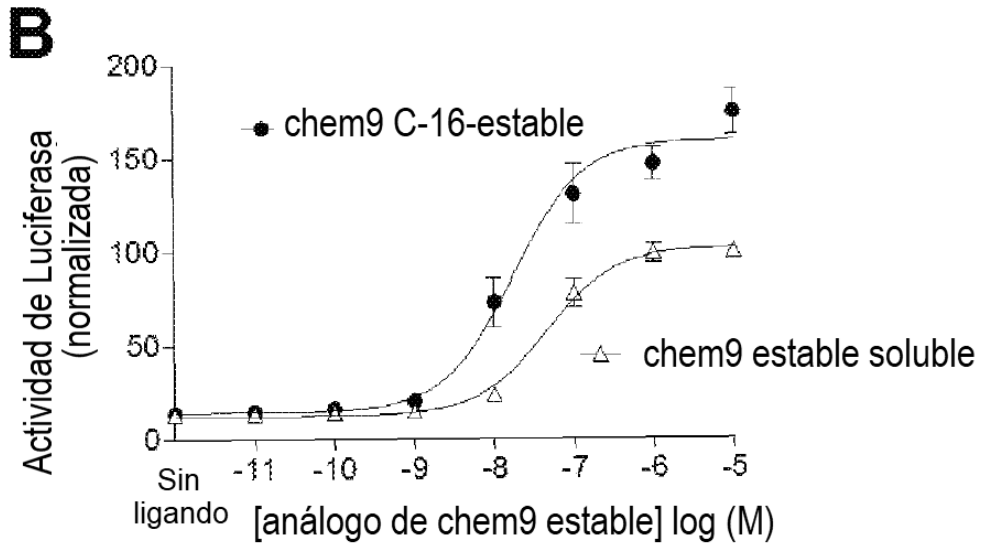


FIG. 9B

C

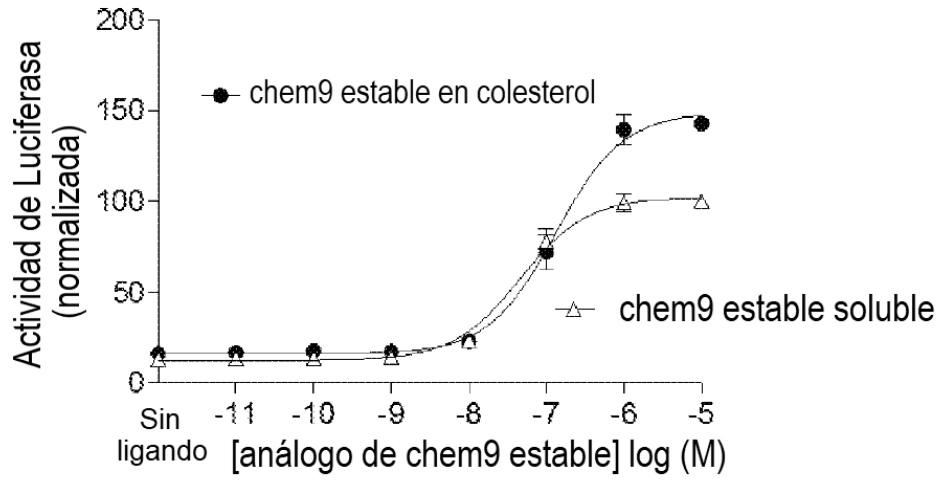


FIG. 9C

D

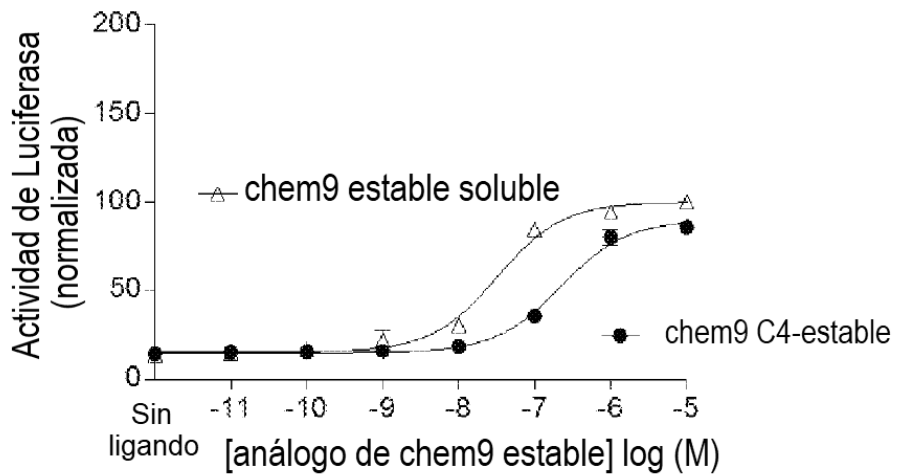
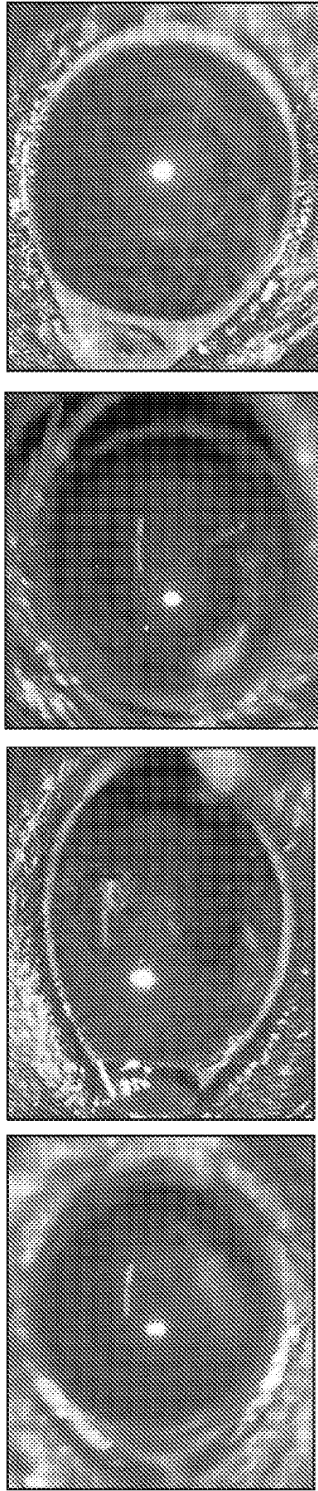


FIG. 9D



Vehiculo

FIG. 10A

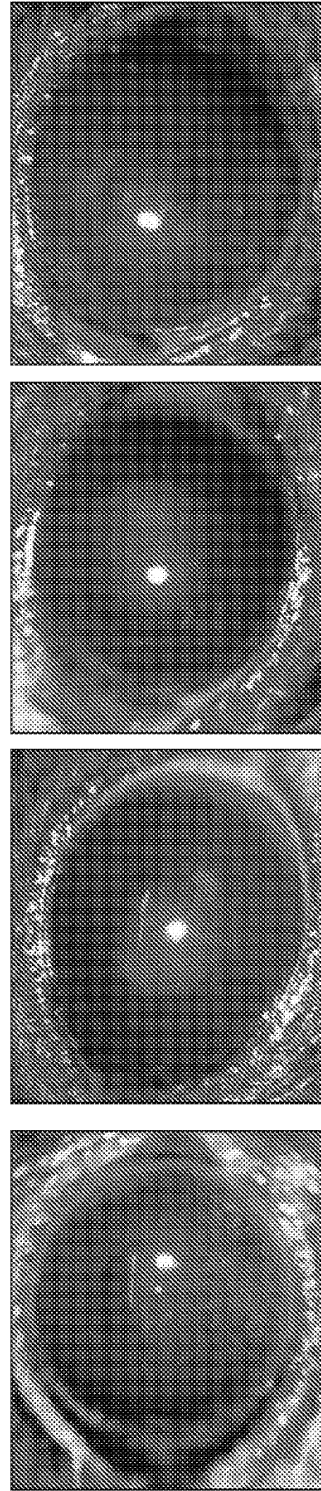


FIG. 10B

OTTX-010

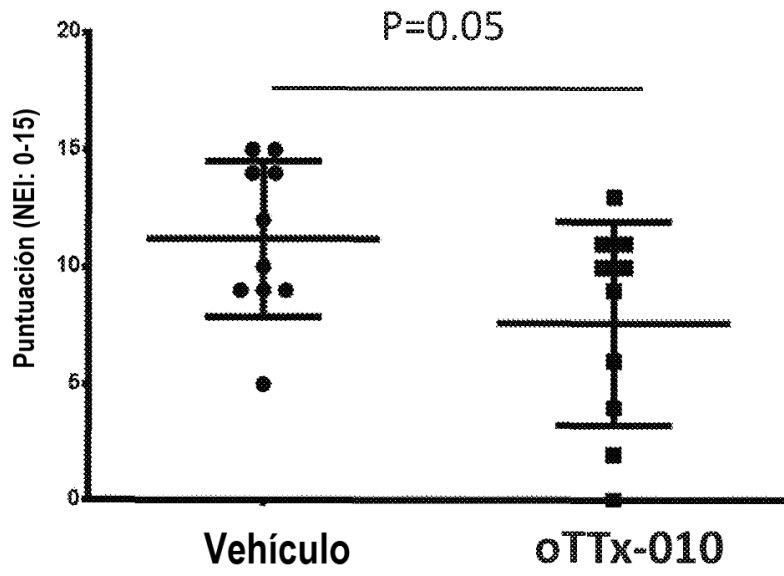


FIG. 11

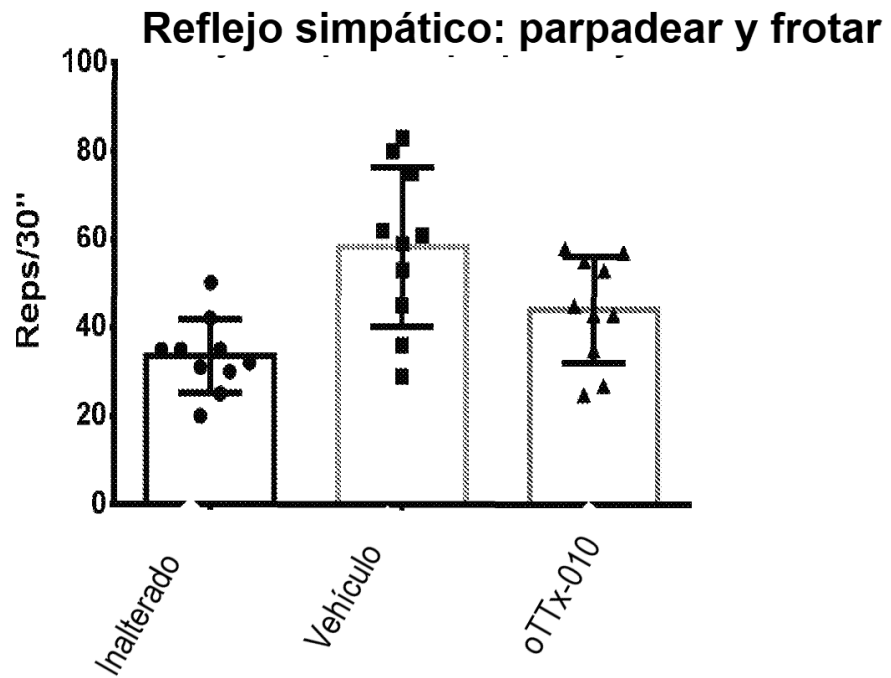


FIG. 12

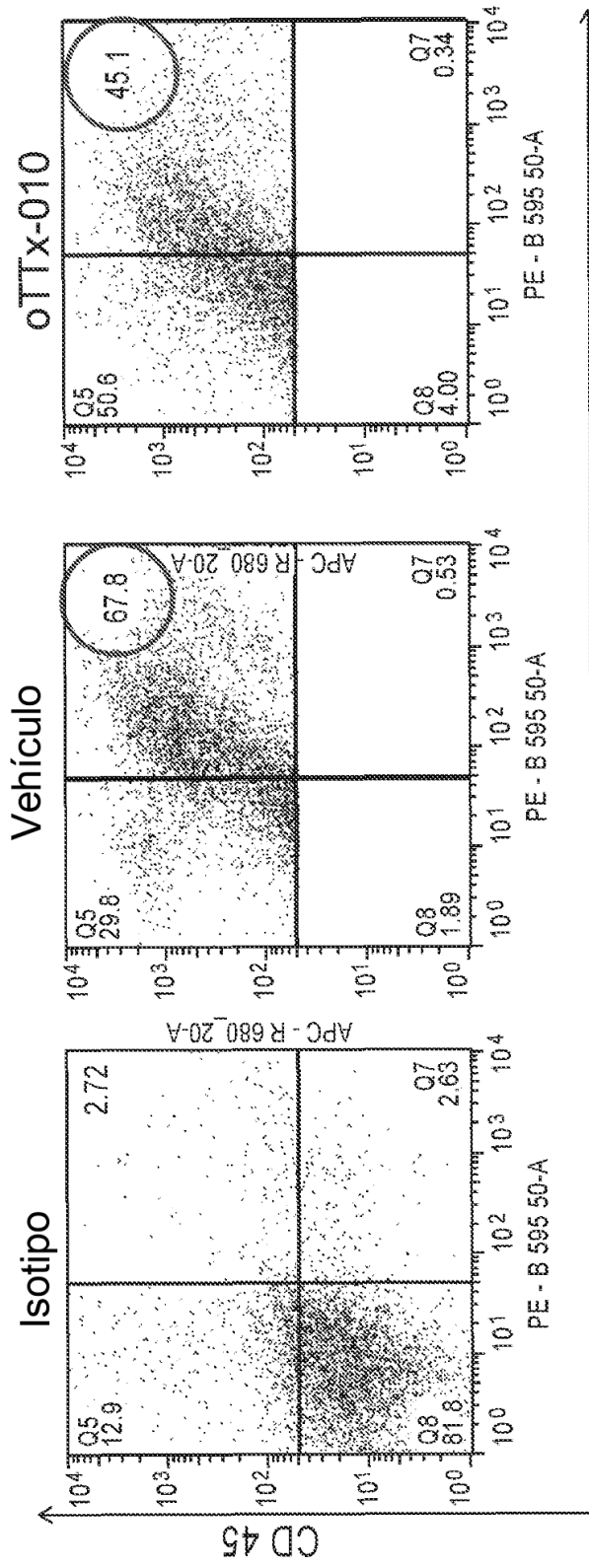


FIG. 13

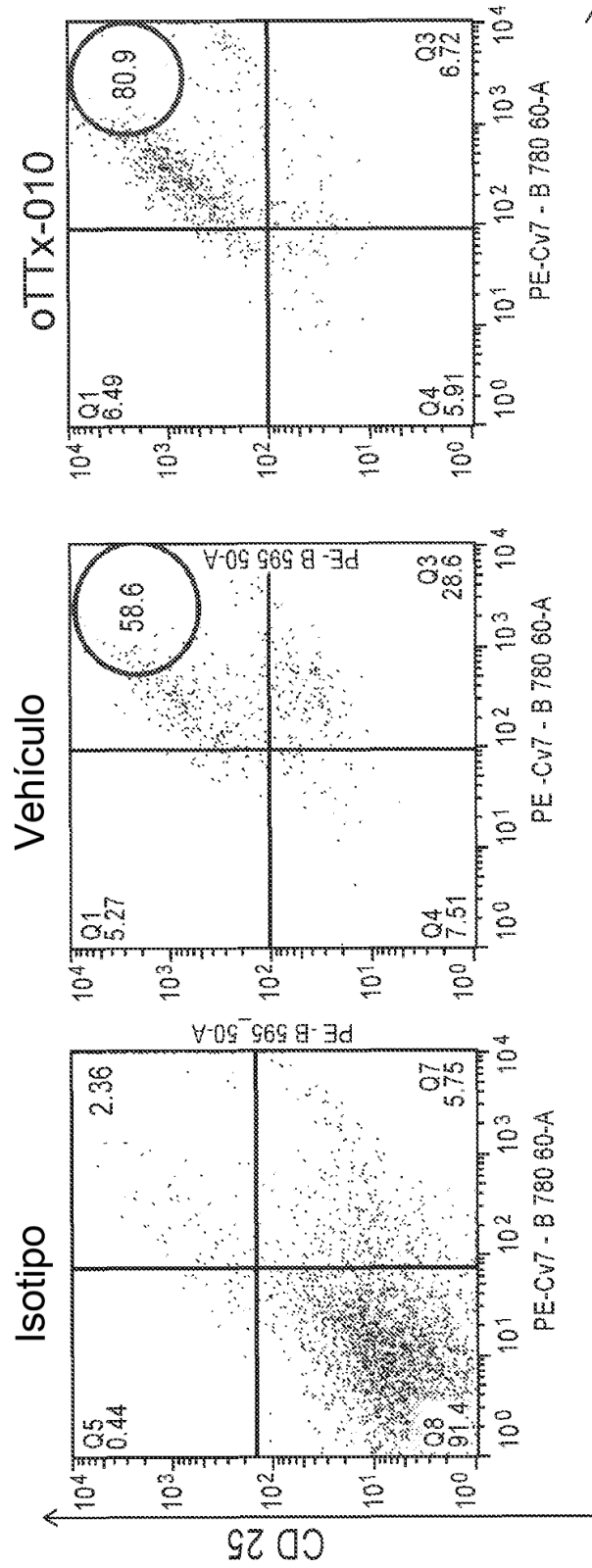


FIG. 14

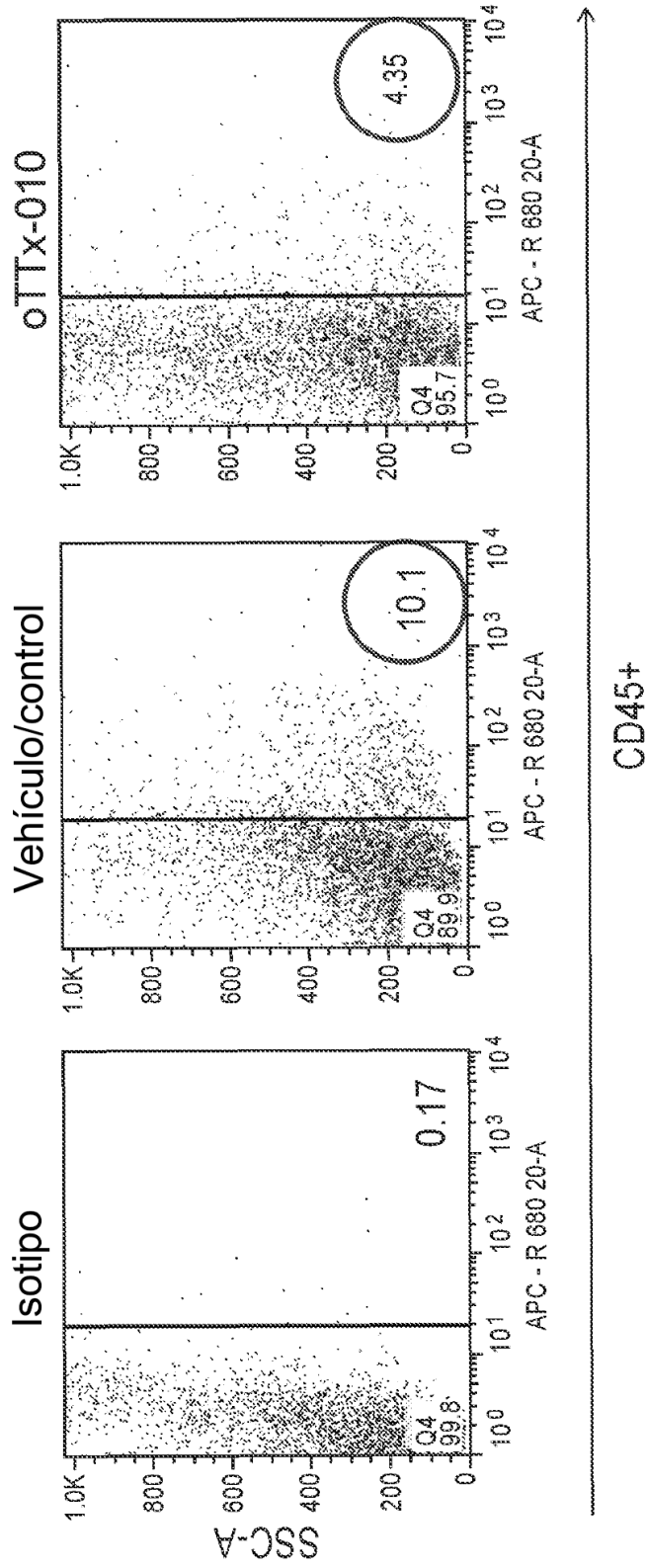


FIG. 15