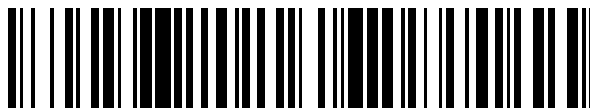


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 749**

21 Número de solicitud: 201331424

51 Int. Cl.:

C07K 7/08 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 17/04 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

30.09.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

31.03.2015

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

06.05.2015

Fecha de la concesión:

08.01.2016

45 Fecha de publicación de la concesión:

15.01.2016

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE (50.0%)
Avda. de la Universidad, s/n
03202 Elche (Alicante) ES y
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (50.0%)

72 Inventor/es:

FERRER MONTIEL, Antonio;
FERNÁNDEZ CARVAJAL, Asia;
DE LA TORRE, Roberto;
GONZÁLEZ MUÑIZ, Rosario;
PÉREZ DE VEGA, María Jesús;
MARTÍN MARTÍNEZ, Mercedes;
BONACHE DE MARCOS, María Ángeles y
BALSERA PAREDES, Beatriz

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

54 Título: **PÉPTIDOS BLOQUEANTES DE TERMORRECEPTORES Y SUS USOS**

57 Resumen:

Péptidos bloqueantes de termorreceptores y sus usos. La invención se relaciona con péptidos helicoidales capaces de modular la activación de canales termosensoriales y con sus aplicaciones. Más concretamente, la invención se relaciona con péptidos con capacidad de bloquear la activación de los canales TRPV1 y TRPVA por parte de sus ligandos, con composiciones farmacéuticas que comprenden dichos péptidos y con el uso de dichos péptidos y dichas composiciones farmacéuticas para el tratamiento de dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

ES 2 532 749 B1

DESCRIPCIÓN

PÉPTIDOS BLOQUEANTES DE TERMORRECEPTORES Y SUS USOS

5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere, en general, a péptidos que tienen la capacidad de modular la activación de termorreceptores y a sus aplicaciones. En particular, la invención se refiere a péptidos helicoidales capaces de bloquear la activación de los termorreceptores TRPV1 y TRPA1 por parte de sus ligandos, así como al uso de estos péptidos para el tratamiento de dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las interacciones proteína-proteína (IPP) son ubicuas en los sistemas biológicos y desempeñan papeles fundamentales en procesos biológicos clave. Por lo tanto, las interacciones aberrantes, inapropiadas o mal reguladas podrían causar diferentes condiciones patológicas, y la capacidad de interferir con IPP específicas puede proporcionar oportunidades atractivas para la intervención terapéutica. El progreso considerable alcanzado durante los últimos años ha demostrado que la interfaz proteína-proteína es más manejable de lo que inicialmente se había pensado, y se han descrito varios inhibidores de diversas IPP. A este respecto, el trabajo pionero de Clackson y Wells en el que se definen los "puntos calientes" como las regiones de alta afinidad de la interfaz proteína-proteína de las IPP que dan cuenta de la mayor parte de la energía de enlace, constituyó un avance conceptual importante (Clackson et al., Science 1995, 267: 383-6). Sobre esta base, los agentes que distorsionan las IPP o los estabilizadores de las IPP no tienen que imitar toda la superficie de unión de la proteína, sino más bien un subconjunto más pequeño de residuos clave y, en consecuencia, podrían usarse péptidos, peptidomiméticos y pequeñas moléculas para modular estas interacciones. El diseño y síntesis de compuestos capaces de imitar la conformación y las propiedades electrónicas de los epítopos funcionales en las interfaces de proteínas nativas, imitando elementos de la estructura secundaria de las proteínas, es una estrategia atractiva.

35 Las hélices α , la clase más grande de elementos de estructura secundaria de proteínas, median una plétora de interacciones proteína-proteína altamente específicas. En algunos de

estos complejos de proteínas, sólo una cara de la hélice α está implicada en la unión, con residuos importantes para la afinidad en las posiciones relativas i , $i+4$ e $i+7$. Con bastante frecuencia los contactos clave entre estos motivos helicoidales y los sitios de hélice de unión complementarios están mediados por residuos hidrófobos en las posiciones indicadas.

5 Existen diferentes estrategias químicas para encontrar moduladores de IPP, incluyendo péptidos restringidos derivados de hélices α (mediante puentes disulfuro covalentes, puentes lactámicos, grapado de hidrocarburos y métodos de ciclación HSB), plegámeros o “foldamers” (péptidos β - y péptidos mixtos α/β) y proteomiméticos (terfenilos y análogos heterocíclicos y amida relacionados). Todas estas estrategias, que a veces requieren
10 química elaborada, se han aplicado con éxito a las IPP para las cuales se conocen las interfaces.

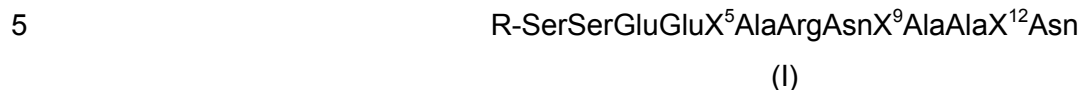
Los canales termosensoriales (termoTRP), pertenecientes a la familia de los receptores de potencial transitorio (TRP) se activan por diferentes temperaturas, desde temperaturas
15 nocivas ($<15^{\circ}\text{C}$ en el caso de TRPA1) hasta al frío inocuo ($<28^{\circ}\text{C}$ en el caso de TRPM8), y al calor perjudicial (52°C en el caso de TRPV1) y contribuyen a la hipersensibilidad térmica bajo condiciones de dolor (Vay *et al.*, Br. J. Pharmacol. 2012, 165: 787-801; Ferrer-Montiel *et al.*, Exp. Opin. Therap. Pat. 2012, 22: 999-1017). Además, los termoTRP también están implicados en la fisiopatología de varias enfermedades, como la inflamación, el asma, y
20 ciertos tipos de cáncer (Vay *et al.*, *supra*; Ferrer-Montiel *et al.*, *supra*; Santoni *et al.*, Endoc. Metabol. Immune Dis.- Drug Targets 2011, 11: 54-67), motivo por el cual existen programas intensivos de descubrimiento de fármacos dirigidos a desarrollar nuevos moduladores de estos canales, especialmente de TRPV1 (Vay *et al.*, *supra*; Ferrer-Montiel *et al.*, *supra*; Santoni *et al.*, *supra*; Moran *et al.*, Drug Dicover. 2011, 10: 601-20).

25 Sin embargo, después de la enorme inversión realizada y de la gran cantidad de moléculas ensayadas, los ensayos clínicos con antagonistas de TRPV1 han sido en su mayoría decepcionantes debido a efectos secundarios imprevistos. Por otra parte, el desarrollo de moduladores de otros canales TRP se encuentra todavía en etapas iniciales (Ferrer-Montiel
30 *et al.*, *supra*). Por lo tanto, existe una necesidad de encontrar nuevos enfoques que permitan la obtención de moduladores de termoTRPs con mecanismos de acción alternativos.

COMPENDIO DE LA INVENCION

En un primer aspecto la invención se relaciona con un péptido con capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1, en donde la estructura secundaria del péptido en disolución acuosa tiene al menos un 20% de hélice alfa, seleccionado entre:

a) un péptido de fórmula general (I) que comprende la secuencia de aminoácidos:



donde

R se selecciona entre H o R'-CO-, siendo R' un alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido o un alqueno C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido,

10 X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan independientemente entre Phe, Trp, Tyr, Leu, Ile, Met o Ala; y

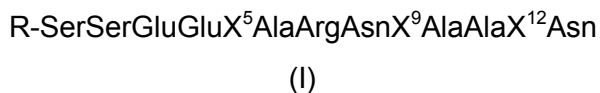
b) una variante del péptido definido en a),
y sus sales farmacéuticamente aceptables.

15 En un segundo aspecto la invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido según el primer aspecto junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto la invención se relaciona con un uso de un péptido según el primer
20 aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio o como antitusivo.

25 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

Los autores de la presente invención han descubierto que, sorprendentemente, determinados péptidos con estructura secundaria eminentemente helicoidal, caracterizados por la presencia de tres residuos aromáticos o dos residuos aromáticos y uno alifático en
30 una cara de la hélice, son capaces de bloquear la activación por parte de sus ligandos de los canales termoTRP TRPV1 y/o TRPA1. En concreto, los péptidos que responden a la fórmula general (I)



35 en donde

R se selecciona entre H o R'-CO-, siendo R' un alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido o un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido,

X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan independientemente entre Phe, Trp, Tyr, Leu, Ile, Met o Ala

- 5 son capaces de bloquear la entrada de Ca²⁺ inducida por capsaicina a través del canal TRPV1 y/o la entrada de Ca²⁺ inducida por alil-isotiocianato a través del canal TRPA1 (ejemplo 3).

10 En base a este descubrimiento se han desarrollado los aspectos inventivos que se describen a continuación.

Péptido de la invención

15 En un primer aspecto, la invención se relaciona con un péptido, en adelante péptido de la invención, con capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1, en donde la estructura secundaria del péptido en disolución acuosa tiene al menos un 20% de hélice alfa, seleccionado entre:

- a) un péptido de fórmula general (I) que comprende la secuencia de aminoácidos:



20 (I)

donde

R se selecciona entre H o R'-CO-, siendo R' un alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido o un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido,

25 X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan independientemente entre Phe, Trp, Tyr, Leu, Ile, Met o Ala; y

- b) una variante del péptido definido en a);

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

30 El término "péptido", tal y como aquí se utiliza, se refiere a un polímero formado por la unión, en un orden definido, de alfa-aminoácidos mediante un enlace peptídico, e incluye modificaciones o derivados del mismo, por ejemplo, glicosilación, fosforilación, acetilación, amidación, etc. Los aminoácidos del péptido de la invención, en función de la orientación del grupo amino que lleva el átomo de carbono alfa, pueden pertenecer a la serie L o a la serie D, preferentemente, a la serie L.

35

El péptido de la invención se caracteriza por su capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1.

El término “TRPV1”, del inglés “*transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1*”, también denominado “receptor de capsaicina” o “receptor vaniloide 1”, tal y como aquí se utiliza, se refiere a una proteína de mamífero, tal como de humano, mono, rata, ratón, perro, especie bovina, conejo y similares, de aves, de peces o de otro animal y que, ilustrativamente, en humanos está codificada por cualquiera de los transcritos cuyos números de acceso de Genbank son NM_018727.5 (12 de agosto de 2013), NM_080704.3 (31 de agosto de 2013), NM_080705.3 (12 de agosto de 2013), NM_080706.3 (12 de agosto de 2013) y XM_005256782.1 (13 de agosto de 2013). TRPV1 es un miembro del grupo TRPV de la familia de receptores de potencial transitorio (TRP). Los “receptores de potencial transitorio” o “TRP” son un grupo de canales iónicos que se localizan en la membrana plasmática de numerosos tipos celulares humanos y animales. Existen alrededor de 28 canales TRP que comparten cierta similitud estructural, muchos de los cuales median sensaciones como el dolor, calor, frío, diferentes tipos de gustos, presión y visión. TRPV1 se considera adicionalmente un receptor termosensorial o termoTRP, siendo activado por temperaturas próximas al calor perjudicial (>42°C).

El término “TRPA1”, del inglés “*transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1*”, tal y como aquí se utiliza, se refiere a una proteína de mamífero, tal como de humano, mono, rata, ratón, perro, especie bovina, conejo y similares, de aves, de peces o de otro animal y que, ilustrativamente en humanos está codificada por el transcrito cuyo número de acceso de Genbank es NM_007332.2 (11 de agosto de 2013). TRPA1 es un canal iónico miembro de la familia de canales de receptores de potencial transitorio o TRP. El extremo amino terminal de TRPA1 contiene repeticiones de anquirina y se cree que puede funcionar como sensor de estrés mecánico (García-Añoveros y Nagata, Handb. Exp. Pharmacol. 2007, 179: 347-62). TRPA1 se considera adicionalmente un receptor termosensorial o termoTRP, siendo activado por frío nocivo (<17°C).

La expresión “con capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1”, tal y como aquí se utiliza, se refiere a la habilidad para reducir o suprimir la activación de los canales TRPV1 y/o TRPA1 en respuesta a diferentes estímulos, suprimiendo por tanto su función biológica. La activación tanto de TRPV1 como de TRPA1 supone la apertura del canal permitiendo la entrada de calcio, con el consiguiente incremento de la concentración intracelular de calcio. El canal TRPV1 se activa en respuesta a diferentes agonistas

exógenos, como evodiamine o capsacina. El canal TRPA1 se activa en respuesta a alil-isotiocianato o cinamaldehído. Por tanto, para determinar la capacidad de un péptido de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1 se puede emplear cualquier técnica conocida que permita determinar si un determinado péptido es capaz de reducir o suprimir la activación de TRPV1 y/o TRPA1 en respuesta a cualquiera de sus estímulos. A modo ilustrativo, se puede determinar la capacidad de un péptido de bloquear la activación de TRPV1 determinando si dicho péptido reduce y/o suprime la entrada de calcio a través del canal TRPV1 en respuesta a capsacina, por ejemplo, mediante el ensayo descrito por Valente et al. (Valente *et al.*, The FASEB Journal 2011, 25: 1628-40). Brevemente, la activación del receptor TRPV1 por tratamiento con capsacina comporta la apertura del canal iónico del receptor expresado en dichas células y el consiguiente aumento de la concentración de calcio intracelular. Sin embargo, cuando se añade un péptido inhibidor del receptor, la concentración de calcio intracelular disminuye con respecto a la de las células sin tratar con el péptido inhibidor o una variante funcionalmente equivalente. De forma análoga, se puede determinar la capacidad de un péptido de bloquear la activación de TRPA1 determinando si dicho péptido reduce y/o suprime la entrada de calcio a través del canal TRPA1 en respuesta a alil-isotiocianato o cinamaldehído. Se considera que un péptido tiene capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1 si la actividad de TRPV1 y/o TRPA1 está disminuida en al menos un 15%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100%, con respecto a la de las células que expresan el receptor TRP sin tratar con dicho péptido. En una realización particular, se considera que un péptido de la invención tiene la capacidad de bloquear la activación de TRPV1 si el incremento en la concentración intracelular de calcio en respuesta a capsacina en células que expresan TRPV1 está disminuido en al menos un 15%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100%, con respecto al incremento en la concentración intracelular de calcio en respuesta a capsacina en células que expresan TRPV1 y que no han sido tratadas con dicho péptido. En una realización particular, se considera que un péptido de la invención tiene la capacidad de bloquear la activación de TRPA1 si el incremento en la concentración intracelular de calcio en respuesta a alil-isotiocianato en células que expresan TRPA1 está disminuido en al menos un 15%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100%, con respecto al incremento en la concentración intracelular de calcio en respuesta a alil-isotiocianato en células que expresan TRPA1 y que no han sido tratadas con dicho péptido.

El péptido de la invención se caracteriza por la presencia de al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100% de estructura secundaria en hélice alfa en disolución acuosa, preferiblemente entre un 20% y un 50%. El término “estructura secundaria”, tal y como aquí se utiliza, se refiere al plegamiento regular local entre residuos aminoacídicos cercanos de la cadena polipeptídica, estabilizado por interacciones no covalentes, usualmente puentes de hidrógeno que se forman entre los grupos carbonilo y amino de los carbonos involucrados en las uniones peptídicas de los aminoácidos cercanos en la cadena. Los ejemplos de estructura secundaria incluyen una hélice α , lámina β y giro β . El término “hélice alfa”, tal y como se usa en la presente descripción, se refiere un motivo de la estructura secundaria de las proteínas caracterizado por la disposición de los aminoácidos formando una estructura helicoidal dextrógira con unos 3,6 aminoácidos por vuelta, de forma que cada aminoácido supone un giro de unos 100° en la hélice y los carbonos alfa de dos aminoácidos contiguos están separados por $1,5\text{\AA}$. Esta estructura se mantiene gracias a los enlaces de hidrógeno intracatenarios formados entre el grupo carbonilo del aminoácidos “n” y el grupo amino del aminoácido “n+4”. El término “disolución acuosa”, tal y como se usa en la presente descripción, se refiere a una disolución acuosa que no comprende ninguna sustancia capaz de modificar el porcentaje de hélice alfa de un péptido, en particular a una disolución acuosa que no contiene 2,2,2-trifluoretanol (TFE). El término “2,2,2-trifluoretanol” o “TFE”, tal y como se usa en la presente descripción, se refiere al compuesto orgánico de fórmula $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{-OH}$.

En una realización particular, el péptido de la invención se caracteriza por la presencia de al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100% de estructura secundaria en hélice alfa en una disolución acuosa que adicionalmente comprende TFE, preferiblemente un 30% de TFE.

Cualquier método conocido en el estado de la técnica para determinar la estructura secundaria de un péptido, ya sea de forma teórica como de forma experimental, se puede utilizar para calcular el porcentaje de estructura secundaria en hélice alfa del péptido de la invención. A modo ilustrativo, no limitativo, se puede determinar de forma teórica la helicidad de un péptido mediante el algoritmo AGADIR, accesible en la dirección <http://agadir.crg.es>. Asimismo, el porcentaje de hélice alfa que presenta un péptido en disolución acuosa se puede calcular mediante técnicas estándar conocidas por el experto en la materia, como por ejemplo, dicróismo circular (CD) o resonancia magnética nuclear (NMR). En una realización particular, para la determinación del porcentaje de hélice alfa que presenta el péptido de la invención se registran espectros de CD a 5°C , tanto en H_2O como en soluciones de 30%

TFE-H₂O en una célula de 1 cm. Cuando el péptido de la invención tiene Trp o Tyr, la concentración exacta del péptido se calcula mediante la medida de la absorbancia a 280 nm. En otra realización particular, se registraron espectros de ¹H RMN en disolución al 30% de TFE en H₂O a concentraciones 1 mM. Se utilizan experimentos COSY y TOCSY para la determinación de los sistemas de espín y los desplazamientos conformacionales ($\Delta \delta = \delta$ observado - δ estructura al azar) y las señales de NOE para la determinación de la estructura tridimensional. En una realización particular, el péptido de la invención tiene un porcentaje de al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100%, preferiblemente entre un 20% y un 50%, de estructura secundaria en hélice alfa en disolución acuosa cuando se calcula mediante dicroísmo circular. En una realización particular, el péptido de la invención tiene un porcentaje de al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o un 100%, preferiblemente entre un 20% y un 50%, de estructura secundaria en hélice alfa en una disolución acuosa que adicionalmente comprende TFE, preferiblemente un 30% de TFE, cuando se calcula mediante dicroísmo circular.

En una realización particular, el péptido de la invención es un péptido de fórmula general (I) que comprende la secuencia de aminoácidos:



(I)

donde

R se selecciona entre H o R'-CO-, siendo R' un alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido o un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido,

X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan independientemente entre Phe, Trp, Tyr, Leu, Ile, Met o Ala.

En una realización particular, R es H, es decir, el residuo amino-terminal del péptido no está sustituido. En otra realización particular, R es R', siendo R' un alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido o un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido.

El término "alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido", tal y como se usa en la presente invención, se refiere a un radical de cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que consiste en átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene insaturación, que tiene entre 1 y 20 átomos de carbono, y que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo,

por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, t-butilo, n-pentilo, etc. Los radicales alquilo pueden estar sustituidos opcionalmente por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, O-propilo, O-benzilo, O-benzoato, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, amino, imino, nitro, mercapto y alquiltio. En una realización particular, R es R'CO y R' es un alquilo C₁-C₂₀ no sustituido, preferiblemente el alquilo C₁ no sustituido CH₃, en cuyo caso el extremo amino-terminal del péptido de la invención está acetilado, o el alquilo C₁₅ no sustituido pentadecanoilo, en cuyo caso el extremo amino-terminal del péptido de la invención está palmitoilado. Cuando el extremo amino-terminal del péptido está acetilado o palmitoilado, el grupo R'CO está unido al grupo amino del residuo amino-terminal del péptido.

El término “alquenilo C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido”, tal y como se usa en la presente invención, se refiere a un radical de cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que consiste en átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos una insaturación, que tiene entre 2 y 20 átomos de carbono, y que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, etenilo, n-propenilo, i-propenilo, n-butenilo, n-pentenilo, etc. Los radicales alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, alcoxilo, O-propilo, O-benzilo, O-benzoato, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, amino, imino, nitro, mercapto y alquiltio.

Los residuos de aminoácidos que ocupan las posiciones 5, 9 y 12, es decir, los residuos X⁵, X⁹ y X¹², se seleccionan independientemente entre Phe, Trp, Tyr, Leu, Ile, Met o Ala. En una realización preferida, al menos dos de los residuos X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan entre los aminoácidos aromáticos Phe, Trp y Tyr. En otra realización aún más preferida, dos de los residuos X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan entre los aminoácidos aromáticos Phe, Trp y Tyr y el otro residuo se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala, preferiblemente entre Leu e Ile.

Sin ánimo de estar vinculados a ninguna teoría particular, se cree que la presencia de un aminoácido alifático en la posición central de los tres residuos anteriormente mencionados, es decir, en la posición X⁹, favorece la capacidad del péptido de bloquear de forma específica la activación del canal TRPV1 sin afectar la activación del receptor TRPA1. Por lo tanto, en una realización aún más particular del péptido de la invención, los residuos X⁵ y X¹² se seleccionan entre Phe, Trp y Tyr y el residuo X⁹ se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala, preferiblemente entre Leu e Ile. De forma similar, se cree que la presencia de un aminoácido alifático en la posición más próxima al extremo carboxilo-terminal, es decir, en la posición X¹², favorece la capacidad del péptido para bloquear de forma selectiva la activación de

TRPA1. Por tanto, en otra realización particular del péptido de la invención, los residuos X^5 y X^9 se seleccionan entre Phe, Trp y Tyr y el residuo X^{12} se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala, preferiblemente entre Leu e Ile.

- 5 En una realización particular, el péptido de la invención comprende una secuencia seleccionada entre las que figuran en la tabla 1. En una realización aún más particular, el péptido de la invención consiste en una secuencia seleccionada de las que figuran en la tabla 1.

| Identificador de secuencia | Secuencia de aminoácidos |
|----------------------------|---|
| SEQ ID NO: 1 | SSEE <u>L</u> ARN <u>Y</u> AA <u>F</u> N |
| SEQ ID NO: 2 | SSEE <u>F</u> ARN <u>L</u> AA <u>F</u> N |
| SEQ ID NO: 3 | SSEE <u>Y</u> ARN <u>L</u> AA <u>F</u> N |
| SEQ ID NO: 4 | SSEE <u>Y</u> ARN <u>I</u> AA <u>Y</u> N |
| SEQ ID NO: 5 | SSEE <u>Y</u> ARN <u>L</u> AA <u>Y</u> N |
| SEQ ID NO: 6 | SSEE <u>W</u> ARN <u>Y</u> AA <u>I</u> N |
| SEQ ID NO: 7 | SSEE <u>Y</u> ARN <u>F</u> AA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 8 | SSEE <u>Y</u> ARN <u>Y</u> AA <u>I</u> N |
| SEQ ID NO: 9 | SSEE <u>W</u> ARN <u>W</u> AA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 10 | SSEE <u>F</u> ARN <u>W</u> AA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 11 | SSEE <u>F</u> ARN <u>Y</u> AA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 12 | SSEE <u>Y</u> ARN <u>W</u> AA <u>L</u> N |

10 Tabla 1: Secuencia de los péptidos de acuerdo a la presente invención. En cada secuencia se señalan en negrita y subrayado los residuos correspondientes a las posiciones X^5 , X^9 y X^{12} .

- 15 Preferiblemente, el péptido de la invención presenta en su extremo amino terminal una acetilación o una palmitoilación. En una realización particular, el péptido de la invención es un péptido que comprende una secuencia seleccionada de las secuencias que figuran en la tabla 1 en donde el residuo amino-terminal del péptido está sustituido por un grupo acetilo o por un grupo palmitoilo. En una realización aún más particular, el péptido de la invención comprende una secuencia seleccionada de las que figuran en la tabla 2. En una realización todavía más particular, el péptido de la invención consiste en una secuencia seleccionada de las que figuran en la tabla 2.
- 20

| Identificador de secuencia | Secuencia de aminoácidos |
|----------------------------|--|
| SEQ ID NO: 13 | Ac-SSEE <u>L</u> ARNYAA <u>F</u> N |
| SEQ ID NO: 14 | Ac-SSEE <u>F</u> ARNLAA <u>F</u> N |
| SEQ ID NO: 15 | Ac-SSEEYARNLAA <u>F</u> N |
| SEQ ID NO: 16 | Ac-SSEEYARNIAA <u>Y</u> N |
| SEQ ID NO: 17 | Ac-SSEEYARNLAA <u>Y</u> N |
| SEQ ID NO: 18 | Ac-SSEE <u>W</u> ARNYAA <u>I</u> N |
| SEQ ID NO: 19 | Ac-SSEEYARNFAA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 20 | Ac-SSEEYARNYAA <u>I</u> N |
| SEQ ID NO: 21 | Pal-SSEE <u>W</u> ARN <u>W</u> AA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 22 | Pal-SSEE <u>F</u> ARN <u>W</u> AA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 23 | Pal-SSEE <u>F</u> ARNYAA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 24 | Pal-SSEEYARNFAA <u>L</u> N |
| SEQ ID NO: 25 | Pal-SSEEYARN <u>W</u> AA <u>L</u> N |

Tabla 2. Secuencia de los péptidos modificados en el extremo N-terminal de acuerdo a la invención. En cada secuencia se señalan en **negrita y subrayado** los residuos correspondientes a las posiciones X⁵, X⁹ y X¹². Ac: acetilo; Pal: palmitoilo

5

En otra realización particular, el péptido de la invención es una variante del péptido de fórmula general (I) definido en el apartado a). El término “variante”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un péptido sustancialmente homólogo y funcionalmente equivalente al péptido de fórmula general (I) definido en el apartado a). Tal como aquí se utiliza, un péptido es

10 “sustancialmente homólogo” a otro péptido cuando su secuencia de aminoácidos tiene un grado de identidad de secuencia de, al menos, un 50%, ventajosamente de, al menos, un 60%, preferentemente de, al menos, un 70%, más preferentemente de, al menos, un 80%, todavía más preferentemente de, al menos, un 90%, y, aún más preferentemente de, al menos, un 95%. El grado de identidad entre dos secuencias de aminoácidos puede

15 determinarse por métodos convencionales, por ejemplo, mediante algoritmos estándar de alineamiento de secuencias conocidos en el estado de la técnica, tales como, por ejemplo BLAST (Altschul S.F. *et al.* Basic Local Alignment Search Tool. *J Mol Biol.* 1990 Oct 5; 215(3):403-10). Asimismo, la expresión “funcionalmente equivalente”, tal como aquí se utiliza, significa que el péptido en cuestión (variante) mantiene la capacidad de bloquear la

20 activación de TRPV1 y/o TRPA1. Se puede determinar la capacidad de una variante de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1 mediante cualquier de los métodos descritos anteriormente para determinar la capacidad de un péptido de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1. En una realización particular, el péptido de la invención es una variante

que presenta una o más inserciones, deleciones y/o modificaciones de uno o más aminoácidos de la secuencia de aminoácidos mostrada en el apartado a), y mantiene la capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1. En el contexto de la presente invención la modificación del péptido de fórmula (I) para generar una variante funcionalmente equivalente se realiza mediante sustitución de uno o más aminoácidos del péptido de la invención, preferiblemente aquellos aminoácidos que no se encuentran en las posiciones 5, 9 o 12, por uno de sus correspondientes aminoácidos equivalentes en cuanto a sus propiedades. Se consideran equivalentes en cuanto a sus propiedades los siguientes aminoácidos: ácido glutámico (E) y ácido aspártico (D); treonina (T) y serina (S); valina (V), leucina (L) y isoleucina (I); asparagina (N) y glutamina (Q); lisina (K), arginina (R) e histidina (H) y por último los aminoácidos aromáticos fenilalanina (F), triptófano (W) y tirosina (Y).

El término “variante”, tal y como aquí se utiliza, incluye también fragmentos del péptido de la invención, es decir, incluye aquellos péptidos que comprenden una porción de, al menos, 6 aminoácidos consecutivos, del péptido de fórmula general (I) definido en el apartado a), es decir, una secuencia de, al menos, 6 aminoácidos contiguos comprendida dentro de la secuencia de aminoácidos de la fórmula general (I) mencionada en dicho apartado a), que mantiene la capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1. En una realización particular, el péptido de la invención es un fragmento del péptido de fórmula general (I) definido en a) que comprende 6 o más (es decir, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12) aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos de la fórmula general (I) mencionada en el apartado a), en el que se han eliminado uno o más aminoácidos bien del extremo amino terminal, bien del extremo carboxilo terminal, o bien de ambos extremos, que mantiene la capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1. Preferiblemente, el fragmento de la invención conserva los aminoácidos que se encuentran en las posiciones 5, 9 y 12 del péptido de fórmula (I). Se puede determinar la capacidad de un fragmento de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1 mediante cualquier de los métodos descritos anteriormente para determinar la capacidad de un péptido de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1.

Dentro del ámbito de la presente invención se encuentran también las sales cosmética o farmacéuticamente aceptables de los péptidos proporcionados por esta invención. El término “sales cosmética o farmacéuticamente aceptables” significa una sal reconocida para su uso en animales y más particularmente en seres humanos, e incluye las sales utilizadas para formar sales de adición de bases, bien sean inorgánicas, como por ejemplo y sin sentido limitativo, litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc o aluminio entre otras, bien sean orgánicas como por ejemplo y sin sentido limitativo etilamina,

dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, arginina, lisina, histidina o piperazina entre otras, o sales de adición de ácidos, bien sean orgánicos, como por ejemplo y sin sentido limitativo acetato, citrato, lactato, malonato, maleato, tartrato, fumarato, benzoato, aspartato, glutamato, succinato, oleato, trifluoroacetato, oxalato, pamoato o gluconato entre otros, o inorgánicos, como por ejemplo y sin sentido limitativo cloruro, sulfato, borato o carbonato entre otros. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre y cuando sea cosmética o farmacéuticamente aceptable. Las sales cosmética o farmacéuticamente aceptables de los péptidos de la invención pueden obtenerse por los métodos convencionales, bien conocidos en el estado de la técnica [Berge S.M. *et al.* (1977) *J. Pharm. Sci.* 66: 1-19].

10

En una realización particular, el péptido de la invención presenta en su residuo carboxilo-terminal una modificación química. El término “modificación química”, tal y como aquí se utiliza, indica la unión de grupos específicos al residuo carboxilo terminal del péptido mediante un enlace covalente. Preferiblemente, la modificación química del extremo carboxilo terminal del péptido de la invención es una modificación que disminuye la susceptibilidad de dicho péptido a ser degradado por carboxipeptidasas, incluyendo las carboxipeptidasas A y B, tal como una amidación o una alcoholización. Más preferiblemente, dicha modificación es una amidación.

15

En una realización particular, el péptido de la invención comprende una secuencia seleccionada entre las que figuran en la tabla 1 o en la tabla 2 y adicionalmente comprende una amidación en el extremo carboxilo terminal de dicha secuencia. En una realización particular, el péptido de la invención consiste en una secuencia seleccionada entre las que figuran en la tabla 1 o en la tabla 2 y una amidación en el extremo carboxilo terminal de dicha secuencia.

25

La síntesis de los péptidos de la invención puede realizarse según métodos convencionales, conocidos en el estado de la técnica, como por ejemplo mediante métodos de síntesis de péptidos en fase sólida [Stewart J.M. y Young J.D. (1984) “Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd edition” Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois; Bodanzsky M. y Bodanzsky A. (1994) “The practice of Peptide Synthesis” Springer Verlag, Berlin; Lloyd-Williams P. *et al.* (1997) “Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins” CRC, Boca Raton, FL, USA], la síntesis en solución, una combinación de los métodos de síntesis en fase sólida y en solución o la síntesis enzimática [Kullmann W. (1980) *J.Biol.Chem.* 255: 8234-8238].

30

Los péptidos se pueden obtener igualmente por fermentación de una cepa bacteriana, modificada o no por ingeniería genética con el objetivo de producir las secuencias deseadas,

35

o bien por hidrólisis controlada de proteínas de origen animal o vegetal, preferentemente vegetal, que libere fragmentos peptídicos que contengan, al menos, la secuencia deseada.

5 A modo ilustrativo, un método de obtención de los péptidos de la invención se muestra en el ejemplo 2 de la presente descripción.

Composición farmacéutica de la invención

10 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica, en adelante composición farmacéutica de la invención, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del péptido de la invención junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica de la invención puede contener uno o más péptidos de la invención.

15 Los péptidos de la presente invención tienen una solubilidad en agua variable, según sea la naturaleza de su secuencia o las posibles modificaciones en los extremos *N*-terminal y/o *C*-terminal que presenten. Por tanto, los péptidos de la presente invención pueden incorporarse a las composiciones mediante disolución acuosa, y aquellos que no sean
20 solubles en agua pueden solubilizarse en disolventes convencionales cosmética o farmacéuticamente aceptables tales como por ejemplo y sin sentido limitativo etanol, propanol, isopropanol, propilenglicol, glicerina, butilenglicol o polietilenglicol o cualquier combinación de ellos.

25 La cantidad terapéuticamente eficaz de los péptidos de la invención que debe administrarse, así como su dosificación, dependerá de numerosos factores, incluyendo la edad, estado del paciente, la naturaleza o severidad del desorden o enfermedad a tratar o prevenir, la ruta y frecuencia de administración y de la naturaleza en particular de los péptidos a utilizar.

30 Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad no tóxica pero suficiente del péptido o péptidos de la invención para proporcionar el efecto deseado. Los péptidos de la invención se utilizan en la composición cosmética o farmacéutica de la presente invención a unas concentraciones cosmética o farmacéuticamente eficaces para conseguir el efecto deseado; de forma preferida, respecto al peso total de la composición, entre el
35 0,00000001% (en peso) y el 20% (en peso); preferentemente entre el 0,000001% (en peso)

y el 15% (en peso), más preferentemente entre el 0,00001% (en peso) y el 10% (en peso) y aún más preferentemente entre el 0,001% (en peso) y el 5% (en peso).

El término "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal y como aquí se utiliza, se refiere a un componente de un fármaco distinto del ingrediente activo (definición obtenida de la Agencia Europea del Medicamento). Preferentemente incluye un "transportador, adyuvante y/o vehículo". Los transportadores son formas a las cuales se incorporan las sustancias para mejorar la liberación y efectividad de los fármacos. Los transportadores de fármacos se usan en sistemas de liberación de fármacos, tales como la tecnología de liberación controlada para prolongar la acción del fármaco *in vivo*, disminuir la metabolización del fármaco y reducir la toxicidad del fármaco. Los transportadores también son usados en diseños para incrementar la efectividad de la liberación del fármaco en el sitio de acción farmacológica del mismo (*U.S. National Library of Medicine. National Institutes of Health*). Un adyuvante es una sustancia que se añade a la formulación fármaco y que afecta a la acción del ingrediente activo de un modo predecible. Un vehículo es un excipiente o una sustancia, preferiblemente sin acción terapéutica, usada como medio para dar consistencia en la administración de medicinas (Stedman's Medical Spellchecker, © 2006 Lippincott Williams & Wilkins). Tales transportadores farmacéuticos, adyuvantes o vehículos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluidos los del petróleo, o de origen animal, vegetal o sintético, tales como el aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo o similar, excipientes, disgregantes, agentes humectantes o diluyentes. Transportadores farmacéuticos apropiados están descritos en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin. La selección de estos excipientes y de las cantidades a ser usadas dependerá del modo de aplicación de la composición farmacéutica.

Los péptidos de la invención también se pueden incorporar en sistemas de vehiculización y/o en sistemas de liberación sostenida farmacéuticos.

El término "sistemas de vehiculización" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el péptido de la invención. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua, aceites o surfactantes, incluyendo los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, como por ejemplo y sin sentido limitativo aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, aceites de ricino, polisorbatos, ésteres de sorbitano, éter sulfatos, sulfatos, betaínas, glucósidos, maltósidos, alcoholes grasos, nonoxinolos, poloxámeros, polioxietilenos, polietilenglicoles, dextrosa, glicerol, digitonina y similares. Un experto en la materia conoce los diluyentes, adyuvantes o

excipientes que pueden emplearse en los diferentes sistemas de vehiculización en los que se puede administrar el péptido de la invención.

El término “liberación sostenida” se utiliza en sentido convencional refiriéndose a un sistema de vehiculización de un compuesto que proporciona la liberación gradual de dicho compuesto durante un período de tiempo y preferiblemente, aunque no necesariamente, con niveles de liberación del compuesto relativamente constantes a lo largo de un período de tiempo.

Ejemplos de sistemas de vehiculización o de liberación sostenida incluyen, sin sentido limitativo, liposomas, liposomas mixtos, oleosomas, niosomas, etosomas, milipartículas, micropartículas, nanopartículas y nanopartículas sólidas lipídicas, soportes lipídicos nanoestructurados, esponjas, ciclodextrinas, vesículas, micelas, micelas mixtas de tensioactivos, micelas mixtas fosfolípido-tensioactivo, miliesferas, microesferas y nanoesferas, lipoesferas, milicápsulas, microcápsulas y nanocápsulas, así como en microemulsiones y nanoemulsiones, los cuales se pueden añadir para conseguir una mayor penetración del principio activo y/o mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del mismo. Sistemas de vehiculización o de liberación sostenida preferidos son liposomas, micelas mixtas fosfolípido tensioactivo y microemulsiones, más preferentemente microemulsiones de agua en aceite con estructura interna de micela inversa.

Los sistemas de liberación sostenida pueden prepararse mediante los métodos conocidos en el estado de la técnica, y las composiciones que los contienen pueden administrarse, por ejemplo, por administración tópica o transdérmica, incluyendo los parches adhesivos, los parches no adhesivos, parches oclusivos y los parches microeléctricos, o por administración sistémica, como por ejemplo y sin sentido limitativo por vía oral o parenteral, incluyendo nasal, rectal, implantación o inyección subcutánea, o implantación o inyección directa en una parte del cuerpo concreta, y preferentemente deben liberar una cantidad relativamente constante de los péptidos de la invención. La cantidad de péptido contenida en el sistema de liberación sostenida dependerá, por ejemplo, del sitio de administración, la cinética y duración de la liberación del péptido de la invención, así como la naturaleza del desorden o enfermedad a ser tratada o prevenida.

Los péptidos de la presente invención también pueden adsorberse sobre polímeros orgánicos sólidos o soportes minerales sólidos como por ejemplo y sin sentido limitativo talco, bentonita, sílice, almidón o maltodextrina entre otros.

- 5 Las composiciones que contienen los péptidos de la invención también pueden incorporarse a tejidos, tejidos-no-tejidos (non-woven) y productos sanitarios que estén en contacto directo con la piel, de modo que liberen los péptidos de la invención bien por biodegradación del sistema de anclaje al tejido, tejido-no-tejido o producto sanitario o bien por la fricción de estos con el cuerpo, por la humedad corporal, por el pH de la piel o por la temperatura corporal. Asimismo, los tejidos y los tejidos-no-tejidos pueden emplearse para la confección de prendas que estén en contacto directo con el cuerpo.

- Ejemplos de tejidos, tejidos-no-tejidos, prendas, productos sanitarios y medios de inmovilización de los péptidos a ellos, entre los que se encuentran los sistemas de vehiculización y/o los sistemas de liberación sostenida descritos anteriormente, pueden encontrarse descritos en la literatura y son conocidos en el estado de la técnica [Schaab C.K. (1986) *HAPPI* May 1986; Nelson G. (2002) *Int. J. Pharm.* 242: 55-62; “*Biofunctional Textiles and the Skin*” (2006) *Curr. Probl. Dermatol.* v.33, Hipler U.C. y Elsner P., eds. S. Karger AG, Basel, Switzerland; Malcom R.K. *et al.* (2004) *J. Cont. Release* 97: 313-320].
- 15 Tejidos, tejidos-no-tejidos, prendas y productos sanitarios preferidos son vendas, gasas, camisetas, calcetines, medias, ropa interior, fajas, guantes, pañales, compresas, apósitos, cubrecamas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos y/o mascarillas faciales.

- 25 Las composiciones farmacéuticas que contienen los péptidos de la invención pueden emplearse en distintos tipos de composiciones de aplicación tópica o transdérmica que opcionalmente incluirán los excipientes farmacéuticamente aceptables necesarios para la formulación de la forma de administración deseada. Un experto en la materia conoce los distintos excipientes que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas que
- 30 contienen los péptidos de la invención.

- Las composiciones de aplicación tópica o transdérmica pueden presentarse en cualquier formulación sólida, líquida o semisólida, como por ejemplo y sin sentido limitativo, cremas, emulsiones múltiples tales como por ejemplo y sin sentido limitativo emulsiones de aceite y/o
- 35 silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, emulsiones del tipo agua/aceite/agua o agua/silicona/agua y emulsiones del tipo aceite/agua/aceite o

silicona/agua/silicona, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles crema, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, hidrogeles, linimentos, sueros, jabones, champús, acondicionadores, serums, films de polisacáridos, ungüentos, mousses, pomadas, polvos, barras, lápices y vaporizadores o aerosoles ("sprays"), incluyendo las formulaciones de permanencia o "leave on" y las de enjuagado o "rinse-off". Estas formulaciones de aplicación tópica o transdérmica pueden ser incorporadas mediante las técnicas conocidas por los expertos en la materia a distintos tipos de accesorios sólidos tales como por ejemplo y sin sentido limitativo vendas, gasas, camisetas, calcetines, medias, ropa interior, fajas, guantes, pañales, compresas, apósitos, cubrecamas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos o mascarillas faciales, o pueden incorporarse a distintos productos de línea de maquillaje tales como fondos de maquillaje, como por ejemplo fondos de maquillaje fluidos y fondos de maquillaje compactos, lociones desmaquillantes, leches desmaquillantes, correctores de ojeras, sombras de ojos, barras de labios, protectores labiales, brillos labiales y polvos entre otros.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden incluir agentes que aumenten la absorción percutánea de los péptidos de la invención, como por ejemplo y sin sentido limitativo dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, surfactantes, azona (1-dodecilazacicloheptan-2-ona), alcohol, urea, etoxidiglicol, acetona, propilenglicol o polietilenglicol entre otros. Asimismo, las composiciones cosméticas o farmacéuticas objeto de la presente invención pueden aplicarse en las áreas locales a tratar por iontoforesis, sonoforesis, electroporación, parches microeléctricos, presión mecánica, gradiente de presión osmótica, cura oclusiva, microinyecciones o inyecciones sin agujas mediante presión, como por ejemplo inyecciones por presión de oxígeno, o cualquier combinación de ellas, para conseguir una mayor penetración del péptido de la invención. La zona de aplicación vendrá determinada por la naturaleza del desorden o enfermedad a tratar o prevenir.

Asimismo, las composiciones farmacéuticas que contienen los péptidos de la invención pueden usarse en distintos tipos de formulaciones para su administración oral, preferentemente en forma de cosméticos o fármacos orales, como por ejemplo y sin sentido limitativo en cápsulas, incluyendo las cápsulas de gelatina, cápsulas blandas, cápsulas duras, comprimidos, incluyendo los comprimidos recubiertos de azúcar, tabletas, píldoras, polvos, formas granuladas, gomas de mascar, soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires, films de polisacáridos, jaleas o gelatinas, así como en cualquier otra

presentación conocida por un experto en la materia. En una realización particular, los péptidos de la invención pueden ser incorporados en cualquier forma de alimento funcional o alimento enriquecido, como por ejemplo y sin sentido limitativo en barritas dietéticas o en polvos compactos o no compactos. Dichos polvos pueden solubilizarse en agua, soda, productos lácteos, derivados de soja o ser incorporados en barritas dietéticas. Los péptidos de la invención pueden formularse con los excipientes y adyuvantes usuales para las composiciones orales o suplementos alimentarios, como por ejemplo y sin sentido limitativo, componentes grasos, componentes acuosos, humectantes, conservantes, agentes texturizantes, sabores, aromas, antioxidantes y colorantes comunes en el sector alimentario.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los péptidos de la invención pueden administrarse además de por vía tópica o transdérmica, por cualquier otro tipo de vía apropiada, por ejemplo por vía oral o parenteral, para lo cual incluirán los excipientes farmacéuticamente aceptables necesarios para la formulación de la forma de administración deseada. En el contexto de la presente invención, el término “parenteral” incluye vía nasal, auricular, oftálmica, rectal, uretral, vaginal, inyecciones subcutáneas, intradérmicas, intravasculares como por ejemplo intravenosas, intramusculares, intraoculares, intravítreas, intracorneales, intraespinales, intramedulares, intracraneales, intracervicales, intracerebrales, intrameningeales, intraarticulares, intrahepáticas, intratorácicas, intratraqueales, intratecales e intraperitoneales, así como cualquier otra inyección similar o técnica de infusión. Un experto en la materia conoce las distintas formas en que se pueden administrar las composiciones cosméticas o farmacéuticas que contienen los péptidos de la invención.

Entre los adyuvantes farmacéuticamente aceptables contenidos en las composiciones farmacéuticas descritas en la presente invención se encuentran los ingredientes adicionales comúnmente utilizados en composiciones farmacéuticas, tales como por ejemplo y sin sentido limitativo, otros agentes antiinflamatorios y/o analgésicos, otros agentes antiprurito, agentes calmantes, agentes anestésicos, inhibidores de la agregación de los receptores de acetilcolina, agentes inhibidores de la contracción muscular, agentes anticolinérgicos, agentes inhibidores de elastasa, agentes inhibidores de las metaloproteasas de matriz, agentes estimuladores o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes blanqueantes o despigmentantes, agentes propigmentantes, agentes autobronceantes, agentes antienvjecimiento, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes inhibidores de la 5 α -reductasa, agentes inhibidores de lisil- y/o prolil-hidroxilasa, agentes antioxidantes, agentes capturadores de radicales libres y/o anticontaminación atmosférica, agentes

capturadores de especies reactivas carbonilo, agentes antiglicación, agentes
 antihistamínicos, agentes antivirales, agentes antiparasitarios, agentes emulsionantes,
 emolientes, disolventes orgánicos, propelentes líquidos, acondicionadores de la piel,
 humectantes, sustancias que retienen la humedad, alfa-hidroxiácidos, beta-hidroxiácidos,
 5 hidratantes, enzimas epidérmicas hidrolíticas, vitaminas, aminoácidos, proteínas, pigmentos
 o colorantes, tintes, biopolímeros, polímeros gelificantes, agentes espesantes, tensioactivos,
 agentes suavizantes, emulgentes, agentes aglutinantes, conservantes, agentes antiarrugas,
 agentes capaces de disminuir o tratar las bolsas bajo los ojos, agentes exfoliantes, agentes
 antimicrobianos, agentes antifúngicos, agentes fungistáticos, agentes bactericidas, agentes
 10 bacteriostáticos, agentes estimuladores de la síntesis de macromoléculas dérmicas o
 epidérmicas y/o capaces de inhibir o prevenir su degradación, agentes estimuladores de la
 síntesis de colágeno, agentes estimuladores de la síntesis de elastina, agentes
 estimuladores de la síntesis de decorina, agentes estimuladores de la síntesis de laminina,
 agentes estimuladores de la síntesis de defensinas, agentes estimuladores de la síntesis de
 15 aquaporinas, agentes estimuladores de la síntesis de ácido hialurónico, agentes
 estimuladores de la síntesis de fibronectina, agentes estimuladores de la síntesis de
 sirtuínas, agentes estimuladores de la síntesis de las proteínas de choque térmico, agentes
 estimuladores de la síntesis de lípidos y componentes del estrato córneo, ceramidas, ácidos
 grasos, agentes inhibidores de la degradación de colágeno, agentes inhibidores de la
 20 degradación de elastina, agentes inhibidores de proteasas de serina como cathepsina G,
 agentes estimuladores de la proliferación de fibroblastos, agentes estimuladores de la
 proliferación de queratinocitos, agentes estimuladores de la proliferación de adipocitos,
 agentes estimuladores de la proliferación de melanocitos, agentes estimuladores de la
 diferenciación de queratinocitos, agentes estimuladores de la diferenciación de adipocitos,
 25 agentes inhibidores de la acetilcolinesterasa, agentes dermorrelajantes, agentes
 estimuladores de la síntesis de glicosaminoglicanos, agentes antihiperqueratosis, agentes
 comedolíticos, agentes antipsoriasis, agentes reparadores del ADN, agentes protectores del
 ADN, estabilizantes, agentes para el tratamiento y/o cuidado de pieles sensibles, agentes
 reafirmantes, agentes antiestrías, agentes astringentes, agentes reguladores de la
 30 producción de sebo, agentes lipolíticos o estimuladores de la lipólisis, agentes anticelulíticos,
 agentes antiperspirantes, agentes estimuladores de la cicatrización, agentes coadyuvantes
 de la cicatrización, agentes estimuladores de la reepitelización, agentes coadyuvantes de la
 reepitelización, factores de crecimiento de citoquinas, agentes que actúen sobre la
 circulación capilar y/o la microcirculación, agentes estimuladores de la angiogénesis,
 35 agentes inhibidores de la permeabilidad vascular, agentes venotónicos, agentes que actúen
 sobre el metabolismo de las células, agentes destinados a mejorar la unión

dermis-epidermis, agentes inductores del crecimiento del cabello, agentes inhibidores o retardantes del crecimiento del cabello, agentes retardantes de la caída del cabello, conservantes, perfumes, agentes quelantes, extractos vegetales, aceites esenciales, extractos marinos, agentes provenientes de un procedimiento de biofermentación, sales minerales, extractos celulares, filtros solares y agentes fotoprotectores de naturaleza orgánica o mineral activos contra los rayos ultravioleta A y/o B, o mezclas de ellos, siempre que sean física y químicamente compatibles con el resto de componentes de la composición y en especial con los péptidos de la invención. Asimismo, la naturaleza de dichos ingredientes adicionales no debe alterar de manera inaceptable los beneficios de los péptidos de la presente invención. La naturaleza de dichos ingredientes adicionales puede ser sintética o de origen natural, como por ejemplo extractos vegetales, o provenir de un procedimiento biotecnológico o de una combinación de un procedimiento sintético y un procedimiento biotecnológico. Ejemplos adicionales pueden encontrarse descritos en *CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary & Handbook, 12th Edition (2008)*. En el contexto de la presente invención, se entiende por procedimiento biotecnológico cualquier procedimiento que produce el principio activo, o parte del mismo, en un organismo, o en una parte del mismo.

Usos terapéuticos de la invención

El péptido de la invención es capaz de bloquear la activación de los canales TRPV1 y/o TRPA1.

TRPV1 está sobreexpresado en asma y otras enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias (Nassini *et al.*, Curr. Opin. Investig. Drugs. 2010, 11: 535-42). Los receptores TRP están implicados tanto en dolor neuropático como nociceptivo. Existen evidencias de que los antagonistas de TRPV1 y/o TRPA1 son capaces de atenuar hiperalgesia, alodinia o la hipersensibilidad mecánica en modelos de dolor inflamatorio o neuropático (DiMarzo *et al.*, Curr. Opin. Neurobiol. 2002, 12: 372-79; Eid *et al.*, Mol. Pain 2008, 4: 48; Gauchan *et al.*, Neurosci. Lett. 2009, 458: 93-95). TRPV1 también parece estar implicado en enfermedades o desórdenes epiteliales, tales como dermatitis alérgica por contacto (Nilius *et al.*, Physiol. Rev. 2007, 87: 165-217).

Según se ha descrito recientemente, el canal TRPA1 media el prurito crónico que se observa en enfermedades de la piel como psoriasis y dermatitis atópica (Wilson *et al.*, J Neurosci. 2013, 33(22): 9283-94), dermatitis de contacto alérgica (Liu *et al.*, FASEB Journal

2013) así como el prurito independiente de histamina (Wilson *et al.*, Nat. Neurosci. 2011, 14(5): 9283-94). Asimismo, se conoce la implicación de TRPA1 en los mecanismos mediante los que los estímulos tusivos activan los nervios sensoriales que producen la tos, (Taylor-Clark *et al.*, Pulm. Pharmacol. Ther. 2009, 22(2): 71-74; Belvisi *et al.*, Chest 2011, 140(4): 1040-47), lo que sugiere la utilidad del bloqueo de TRPA1 como una nueva terapia antitusiva. Por otra parte, se ha descrito un papel de TRPA1 en la enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias (Belvisi *et al.*, *supra*) y en la respuesta inflamatoria que se da en enfermedades inducidas por el humo del tabaco (Andrè *et al.*, J. Clin. Invest. 2008, 118(7): 2574-82).

Por tanto, en otro aspecto, la invención se relaciona con el péptido de la invención para su uso en medicina.

En otro aspecto, la invención se relaciona con el péptido de la invención para su uso en el tratamiento y/o prevención de dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso del péptido de la invención para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método de tratamiento y/o prevención de dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio en su sujeto que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del péptido de la invención o de la composición farmacéutica de la invención a un sujeto.

En una realización particular, el péptido de selecciona del grupo que consiste en

- un péptido en donde X⁵ es Leu, X⁹ es Tyr y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Leu y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Leu y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Ile y X¹² es Tyr,

- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Leu y X¹² es Tyr,
- un péptido en donde X⁵ es Trp, X⁹ es Tyr y X¹² es Ile,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Phe y X¹² es Leu,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Tyr y X¹² es Ile y
- 5 - un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Phe y X¹² es Leu

y la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

10

En una realización aún más particular, el péptido se selecciona del grupo que consiste en los péptidos que comprenden las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 24 y la enfermedad se selecciona del grupo que

15 consiste en dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

20 En otra realización particular, el péptido se selecciona del grupo que consiste en

- un péptido en donde X⁵ es Leu, X⁹ es Tyr y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Leu y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Leu y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Ile y X¹² es Tyr,
- 25 - un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Leu y X¹² es Tyr,
- un péptido en donde X⁵ es Trp, X⁹ es Tyr y X¹² es Ile,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Phe y X¹² es Leu,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Tyr y X¹² es Ile,
- un péptido en donde X⁵ es Trp, X⁹ es Trp y X¹² es Leu,
- 30 - un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Trp y X¹² es Leu,
- un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Tyr y X¹² es Leu y
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Trp y X¹² es Leu

y la enfermedad se selecciona del grupo formado por prurito, una enfermedad de las vías respiratorias asociada a inflamación y una enfermedad de la piel, mucosa y/o uñas asociada

35 a inflamación o en donde se usa como antitusivo.

En una realización aún más particular, el péptido se selecciona del grupo que consiste en los péptidos que comprenden las secuencias SEQ ID NO: 1 a SED ID NO: 25 y la enfermedad se selecciona del grupo formado por prurito, una enfermedad de las vías respiratorias asociada a inflamación y una enfermedad de la piel, mucosa y/o uñas asociada a inflamación o en donde se usa como antitusivo.

El término “sujeto”, tal como aquí se utiliza, se refiere a cualquier miembro de una especie de un mamífero e incluye, pero no se limita, a animales domésticos, primates y humanos; el sujeto es preferiblemente un ser humano masculino o femenino de cualquier edad o raza.

El término “tratamiento” o “método de tratamiento”, tal y como se usa en la presente descripción, se refiere a la administración de un péptido según la invención para aliviar o eliminar una enfermedad o desorden o reducir o eliminar uno o más síntomas asociados a dicha enfermedad o desorden. El término “tratamiento” también abarca aliviar o eliminar las secuelas fisiológicas de la enfermedad o desorden.

El término “prevención” o “método de prevención”, tal y como aquí se utiliza, se refiere a la administración de un péptido según la invención prevenir, minimizar o dificultar la aparición o el desarrollo de una enfermedad o estado antes de su aparición.

El término “dolor”, según se utiliza en la presente invención se refiere a una experiencia sensorial (objetiva) y emocional (subjetiva), generalmente desagradable, que pueden experimentar todos aquellos seres vivos que disponen de un sistema nervioso. Es una experiencia asociada a una lesión tisular y se puede referir bien a dolor agudo o crónico. El dolor se selecciona, sin sentido limitativo, del grupo formado por dolor neuropático, dolor inflamatorio, dolor visceral, dolor abdominal, dolor del sistema digestivo, dolor del sistema respiratorio, dolor del sistema urogenital, dolor del sistema endocrino, dolor de corazón, dolor pancreático, dolor intestinal, dolor de estómago, dolor del bazo, dolor de los vasos sanguíneos, síndrome del colon irritable, dolor de cabeza tensional, dolor de cabeza asociado a sinusitis, migraña, dolor ocular, síndrome del ojo seco, dolor post-operativo, dolor post-operativo debido a las incisiones quirúrgicas, dolor post-operativo debido a la inserción de implantes en los huesos, dolor post-operativo debido a la sustitución de huesos, dolor post-operativo debido a las infecciones, dolor debido a cáncer, el dolor debido a cáncer de huesos, dolor asociado a tumores óseos benignos, dolor asociado a osteomas osteoides, dolor asociado a osteoblastomas, dolor debido al tratamiento del cáncer, dolor músculoesquelético, dolor muscular espástico, fibromialgia, dolor neurálgico, dolor de cuello

asociado a distonias cervicales, dolor de espalda, lumbalgias, ciáticas, inflamación neurogénica, irritación cutánea, pieles sensibles, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, dermatitis del pañal, eccema, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, neuralgia post-herpética, neuropatías periféricas, dolor fantasma, alodinia, dolor debido al síndrome del túnel carpiano, dolor quemante, parestesias, dolor facial, neuralgia del trigémino, dolor neuropático debido a diabetes, dolor asociado de procesos de tatuaje o a eliminación de tatuajes, dolor debido a juanetes, dolor testicular, dolor miofascial, dolor de la vejiga urinaria, dolor del tracto urinario, dolor vulvar, dolor vaginal, dolor escrotal, dolor perineal, dolor pélvico, dolor o irritación cutánea tras una intervención quirúrgica, tras un tratamiento con terapia de luz pulsada (IPL, Intense Pulse Light), tras un tratamiento con terapia de luz pulsada monocromática (láser), tras un tratamiento con agentes descamantes químicos o tras una sobreexposición a agentes externos agresivos. En una realización preferida, los compuestos de la invención se utilizan para el tratamiento y/o prevención del dolor neuropático y del dolor inflamatorio.

El péptido de la invención también puede utilizarse para el tratamiento y/o prevención de dolor inflamatorio, que generalmente es resultado de una respuesta inflamatoria a daño tisular, como pinzamiento de nervios, métodos quirúrgicos, cáncer o artritis (Brower, Nature Biotechnology 2000; 18: 387-391). La mayoría de los pacientes con dolor inflamatorio no experimentan dolor de manera continua, sino que experimentan más dolor cuando mueven el sitio inflamado.

En una realización particular, el péptido de la invención se utiliza para el tratamiento y/o prevención de la inflamación consecuencia de desórdenes o patologías seleccionados del grupo formado por inflamación neurogénica, relacionadas con inflamación de articulaciones, sepsis, inflamación vascular, inflamación respiratoria, asma, inflamación intestinal, condiciones relacionadas con inflamación crónica, con inflamación aguda, nefritis, lupus sistémico eritematoso, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, glomerulonefritis, vasculitis y sarcoidosis, entre otras.

En una realización particular, el péptido de la invención se utiliza para la prevención y/o tratamiento de prurito. Tal como se utiliza en la presente invención, el prurito es un hormigueo peculiar o irritación incómoda de la piel que conlleva un deseo de rascar la parte en cuestión. El prurito puede presentarse bien disseminado en diversas áreas del cuerpo (prurito generalizado) o en una zona específica (prurito localizado). En una realización preferida, el prurito está asociado a enfermedades y/o desórdenes epiteliales seleccionados

del grupo formado por dermatitis, dermatitis atópica, fotodermatosis, eczema, piel sensible, psoriasis, caspa, seborrea, pie de atleta, quemaduras solares, xerosis y piel seca, o el prurito asociado con la diálisis, el embarazo, menopausia, la infección del virus de la inmunodeficiencia adquirida, varicela, herpes, neoplasias malignas, enfermedad de Hodgkin, leucemia, mieloma, linfoma, tumores sólidos, cáncer de pulmón, las enfermedades hepáticas, ictericia, colestasis, fallo hepático, cirrosis, policitemia, síndrome hipereosinofílico, trombocitemia esencial, síndrome mielodisplásico, anemia por deficiencia de hierro, lupus sistémico eritematoso, enfermedades endocrinas, enfermedades tiroideas, enfermedades paratiroides, diabetes mellitus, enfermedades renales, uremia, infecciones parasitarias, sarna, piojos, lombrices intestinales, reacciones alérgicas, alergias a medicamentos, alergias a alimentos, alergias a productos químicos, exposición a plantas venenosas, exposición a picaduras de insectos, quimioterapia, estrés y ansiedad.

En otra realización particular, el péptido de la invención se utiliza para el tratamiento y/o prevención de dolor y/o inflamación asociados a desórdenes epiteliales, enfermedades gastrointestinales, enfermedades del sistema cardiovascular, enfermedades del tracto urinario, enfermedades del sistema endocrino, enfermedades cerebrales, enfermedades del sistema reproductivo y cáncer.

En otra realización particular, el péptido de la invención se puede utilizar para el tratamiento y/o prevención de dolor e inflamación asociados a enfermedades cerebrales, tales como infarto cerebral, isquemia cerebral, desórdenes cognitivos, problemas de memoria, esquizofrenia y desorden bipolar, entre otras.

En otra realización particular, el péptido de la invención se puede utilizar para el tratamiento y/o prevención de dolor e inflamación asociados a patologías del sistema reproductivo, tales como la vulvodinia.

En otra realización particular, el péptido de la invención se puede utilizar para el tratamiento y/o prevención de dolor e inflamación asociados a distintos tipos de cáncer, tal como el cáncer de mama, entre otros.

En otra realización particular, el péptido de la invención se puede utilizar para el tratamiento y/o prevención de dolor e inflamación asociados a enfermedades gastrointestinales. Las enfermedades gastrointestinales incluyen, sin limitarse, enfermedad inflamatoria intestinal, la

enfermedad de Crohn, la pancreatitis, la enfermedad de reflujo gastroesofágica y la colitis ulcerosa, entre otras.

En una realización particular, el péptido de la invención se puede utilizar en enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, es decir, enfermedades de las vías respiratorias donde tiene lugar una inflamación patológica. Ejemplos de dichas enfermedades o desórdenes incluyen, aunque no se limitan, a enfermedades obstructivas, tal como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, bronquitis crónica, asma, asma causada por irritantes industriales, fibrosis quística, bronquiectasias, bronquiolitis, aspergilosis broncopulmonar alérgica, o tuberculosis; enfermedades pulmonares restrictivas como asbestosis, fibrosis causada por radiación, alveolitis alérgica extrínseca o neumonitis por insensibilidad, síndrome de dificultad respiratoria infantil, fibrosis pulmonar idiopática, sarcoidosis, neumonía idiopática intersticial, neumonía eosinofílica, linfangioleiomiomatosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, y proteinosis alveolar pulmonar; infecciones del tracto respiratorio incluyendo resfriado común, sinusitis, amigdalitis, faringitis, laringitis o neumonía; tumores malignos respiratorios como cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma indiferenciado de células grandes, carcinoide, mesotelioma, cáncer metastásico de pulmón, cáncer metastásico de células germinales, tumores benignos respiratorios como hamartoma pulmonar; malformaciones congénitas como el secuestro broncopulmonar y malformación congénita adenomatoide quística; enfermedades de la cavidad pleural como empiema y mesotelioma; enfermedades vasculares pulmonares como embolia, tromboembolismo pulmonar, embolia gaseosa o iatrogénica, hipertensión arterial pulmonar, edema pulmonar, hemorragia pulmonar, inflamación y daño a los capilares en los pulmones resultando en goteo de sangre dentro de los alvéolos; trastornos que afectan a la mecánica para respirar como apnea obstructiva del sueño, apnea central del sueño, esclerosis lateral amiotrófica, síndrome de Guillain-Barré y miastenia gravis; dificultad para respirar o disnea, tos, tos con sangre o hemoptisis, dolor en el pecho como dolor torácico pleurítico, respiración ruidosa, sibilancias y cianosis.

En otra realización particular, el péptido de la invención se utiliza para la prevención y/o tratamiento de trastornos o desórdenes epiteliales, así como desórdenes o enfermedades de la mucosa y/o de las uñas asociadas a inflamación, es decir, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas donde tiene lugar una inflamación patológica. Ejemplos de desórdenes epiteliales asociadas a inflamación incluyen, aunque no se limitan, a sensibilidad al tacto, sensibilidad al frío, sensibilidad al calor, irritación cutánea, irritación cutánea post-depilación,

irritación cutánea post-afeitado, dermatitis, dermatitis atópica, dermatitis alérgica por contacto, dermatitis del pañal, fotodermatosis, psoriasis, eczema, quemaduras, quemaduras solares, piel sensible, xerosis y piel seca.

5 En otra realización particular, el péptido de la invención se utiliza para la prevención y/o tratamiento de dolor e inflamación asociados a enfermedades cardiovasculares. La enfermedad del sistema cardiovascular se selecciona, aunque no se limita, a angina, isquemia, reperusión, hipertensión, enfermedad cardíaca crónica y fibrosis cardíaca, entre otros.

10 En una realización particular, el péptido de la invención se utiliza en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad o condición que se beneficie de la inhibición de un canal de iones, es decir, una canalopatía (Kass, J. Clin. Invest. 2005, 115: 1986-1989). En una realización preferida, dicho canal de iones es un canal de calcio. En una realización aún más
15 preferida, dicho receptor canal de calcio es el receptor TRPV1. Por tanto, en una realización particular, los compuestos de la invención se pueden utilizar en desórdenes asociados con desequilibrios del calcio. Ejemplos de dichos desórdenes incluyen, sin sentido limitativo, deficiencia en vitamina D, raquitismo, osteomalacia, retardo en el crecimiento, osteoporosis post-menopáusica, hipercalcemia y desórdenes relacionados con la hormona paratiroidea,
20 entre otros.

EJEMPLO 1: Diseño de novo de los péptidos

Diseño de Novo

Dado que las interacciones proteína-proteína (IPP) se rigen fundamentalmente por efectos
25 hidrófobos (Harrison, B *et al.* Chem. Rev. 2008, 108: 1225-1244), y las hélices α está altamente representadas en las interfaces de las IPP, es de esperar que péptidos helicoidales con residuos hidrófobos aromáticos y alifáticos colocados de forma apropiada puedan servir para descubrir nuevos moduladores de estas interacciones. Para garantizar al menos tres puntos de interacción, se diseñaron péptidos conteniendo tres residuos
30 aromáticos, o dos residuos aromáticos y uno alifático. La longitud de los péptidos debe asegurar la existencia de tres vueltas de hélice para que los residuos clave estén situados en la misma cara de la hélice (posiciones relativas i , $i + 4$, $i + 7$). Usando el software Agadir (Muñoz, V *et al.* Nat. Struct. Biol. 1994, 1: 399-409), se comenzó prediciendo la helicidad del péptido de 12-mer Ac-AAAF⁴AAAF⁸AAF¹¹A-NH₂ (helicidad 11.9%), y cuatro análogos que
35 contenían E(D) y K(R) convenientemente situados (en posiciones 2 y 6) para estabilizar la hélice a través de puentes salinos (en la cara opuesta a los residuos aromáticos F). A partir

del péptido con el mayor contenido en estructura helicoidal (Ac-AEAF⁴ARAF⁸AAF¹¹A-NH₂, 24.8% helicidad), se seleccionaron los mejores residuos para las posiciones no clave. Para ello, se generaron colecciones virtuales de péptidos, que contenían en las posiciones 1, 3, 5, 7, 9, 10 y 12 los 20 aminoácidos proteinogénicos, seguido de predicciones computacionales de helicidad de cada péptido. Las combinaciones de aquellos residuos que condujeron a helicidad superiores a las de Ala fueron consideradas para la generación de la siguiente colección virtual. Teniendo en cuenta que la solubilidad de los péptidos de más de seis residuos suele constituir un problema, se consideró también la solubilidad teórica (calculada con ALOGPS, Tetko, I. V. *et al.* J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2001, 41: 1488-1493) para discriminar entre ciertos aminoácidos. Finalmente, se consideró el alargamiento de los péptidos en un residuo, bien en el extremo N- o C-terminal, para equilibrar helicidad y solubilidad. Este proceso resultó en el diseño final de las sub-colecciones de péptidos de 13 eslabones **L1-L4**, como candidatos para síntesis (Tabla 3). La colección **L1** es el resultado de todas las posibles combinaciones de los tres aminoácidos aromáticos (Phe, Trp, Tyr) en posiciones 5, 9 y 12, mientras que las colecciones **L2-4** combinan dos residuos aromáticos (Phe, Trp, Tyr) y uno alifático (Leu or Ile) en estas posiciones. Los rangos de helicidad predichos para estas colecciones se incluyen en la tabla 3.

| Colección (nº Comp.) | Secuencia | % Helicidad ^b |
|-------------------------|---|-----------------------------|
| L1 (27) | SSEEA⁵ARNAr⁹AAAr¹²N | 35-65 |
| L2 (18) | SSEEA⁵ARNAr⁹AAAr¹²N | 33-58 |
| L3 (18) | SSEEA⁵ARNAl⁹AAAr¹²N | 32-46 |
| L4 (18) | SSEEA⁵ARNAr⁹AAAl¹²N | 35-65 |

Tabla 3. Colecciones diseñadas de péptidos helicoidales. ^a Para los cálculos, todos los péptidos están acetilados en N-terminal y amidados en C-terminal. Ar = aminoácidos aromáticos F, W, y Y; Al = aminoácidos alifáticos I, and L. ^b Calculado con Agadir.

EJEMPLO 2: Obtención de los péptidos

Síntesis de Péptidos en fase sólida

La síntesis de estos péptidos se llevó a cabo en fase sólida siguiendo la estrategia Fmoc/t-Bu²², a partir de 200 mg de resina Rink amida, en cada caso utilizando como aminoácido de partida Fmoc-Asn(Trt)-OH.

5 Soporte polimérico

En el presente trabajo se utilizó una única resina del tipo MBHA-PS (1% DVB) de carga 0.34 mmol/g, común para todos los productos sintetizados, funcionalizada con el espaciador Rink Amida.

10 Síntesis Manual

La síntesis se realizó empleando jeringas de polipropileno, de volumen variable según la cantidad de resina empleada, equipadas con una placa filtrante de polietileno poroso. De forma general, la resina se mantuvo en la jeringa añadiendo los reactivos y disolventes adecuados en cada caso, de modo que se mantuviera cubierta y solvatada. La agitación del soporte polimérico se realizó con varillas de teflón y/o con un agitador orbital. Los excesos de reactivos, disolventes y posibles subproductos se eliminaron por filtración.

El protocolo general de desprotección del Fmoc y acoplamiento en la síntesis manual se describe en la tabla 4.

Tabla 4. Protocolo general de desprotección y acoplamiento de aminoácidos.

| Etapas | Reactivos | Operación | Tiempo |
|---------------|--|--------------------|-----------------------|
| 1 | DCM/DMF/DCM/DMF | Hinchado | 4 x 0.5 min |
| 2 | 20% Piperidina/DMF ^a | Desprotección Fmoc | 1 x 1 min, 3 x 10 min |
| 3 | DMF/DCM/DMF/DCM/DMF | Lavado | 4 x 0.5 min |
| 4 | Fmoc-AA-OH(2 eq) /HCTU(2 eq) /DIEA (2 eq) /DMF | Acoplamiento | 1 h |
| 5 | DMF/DCM/DMF/DCM | Lavado | 5 x 0.5 min |
| 6 | Ensayo ninhidrina | Control | - |

Síntesis automatizada

La síntesis de forma automatizada, se realizó utilizando un sintetizador de péptidos, acoplado a microondas, modelo CEM Liberty1.

Para llevar a cabo cada síntesis se parte de 279 mg de la resina Rink amida indicada. En este caso, la desprotección del grupo Fmoc se llevó a cabo con piperidina-DMF al 20%, utilizando un protocolo ligeramente diferente, una primera desprotección a 40°C durante 30 segundos, seguida de otra desprotección a 75°C durante 5 minutos. Para el acoplamiento se utiliza HBTU/HOBt como agente acoplante, a 75°C durante 5 minutos.

La incorporación de cada aminoácido se llevó a cabo mediante el protocolo descrito en la tabla 5.

10

Tabla 5. Protocolo general de desprotección y acoplamiento en la síntesis automatizada

| Etapas | Reactivos | Operación | Tiempo |
|---------------|--|--------------------|---------------------------|
| 1 | DMF | Hinchado | 7 ml x 1 Ciclo |
| 2 | 20% Piperidina/DMF ^a | Desprotección Fmoc | 30 seg/ 40°C, 5 min/ 75°C |
| 3 | DMF | Lavado | 7 ml x 4 Ciclos |
| 4 | Fmoc-AA-OH(2 eq)/HBTU(2 eq) HOBt /DIEA (2 eq) /DMF | Acoplamiento | 5 min/ 75°C |
| 5 | DMF | Lavado | 7 ml x 4 Ciclos |
| 6 | Ensayo ninhidrina | Control | - |

^aLas proporciones entre reactivos y disolventes son volumétricas.

Acetilación de aminas

Una vez finalizada la elongación del péptido, el protocolo a seguir para la acetilación del extremo N-terminal se describe a continuación en la tabla 6.

Tabla 6. Protocolo general de acetilación de aminas en el extremo N-terminal.

| Etapa | Reactivos | Operación | Tiempo |
|-------|------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| 1 | DCM/DMF/DCM/DMF | Hinchado | 4 x 0.5 min |
| 2 | 20% Piperidina/DMF ^a | Desprotección Fmoc | 1 x 1 min, 3 x 10 min |
| 3 | DMF/DCM/DMF/DCM/DMF | Lavado | 4 x 0.5 min |
| 4 | Ac ₂ O:DMF:DIEA (1:1:1) | Acetilación | 1 x 1 min, 4 x 10 min |
| 5 | DMF/DCM/DMF/DCM | Lavado | 4 x 0.5 min |
| 6 | Ensayo ninhidrina | Control | - |

^aLas proporciones entre reactivos y disolventes son volumétricas.

Palmitoilación de aminas

- 5 Una vez finalizada la elongación del péptido, el protocolo general de acoplamiento del ácido palmítico se describe en la tabla 7.

Tabla 7. Protocolo general de acoplamiento del ácido palmítico en el extremo N-terminal

| Etapa | Reactivos | Operación | Tiempo |
|-------|---|--------------------|-----------------------|
| 1 | DCM/DMF/DCM/DMF | Hinchado | 4 x 0.5 min |
| 2 | 20% Piperidina/DMF | Desprotección Fmoc | 1 x 5 min, 1 x 20 min |
| 3 | DMF/DCM/DMF/DCM/DMF | Lavado | 4 x 0.5 min |
| 4 | Ácido palmítico (2 eq) /HCTU (2 eq) /DIEA (2 eq) /DMF | Acoplamiento | 1 h |
| 5 | DMF/DCM/DMF/DCM | Lavado | 5 x 0.5 min |
| 6 | Ensayo ninhidrina | Control | - |

10 Escisión de los productos de la resina

- Sobre la resina dispuesta en la jeringa, se añadió la mezcla acidolítica formada por (TFA:EDT:H₂O:TIPS) en proporciones (94:2.5:2.5:1), aproximadamente 1 ml de disolución por cada 100 mg de resina. Tras la adición de la disolución, se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Posteriormente, se recogieron los filtrados en un tubo falcon y se le añadió éter frío para provocar la precipitación del péptido. La mezcla se centrifugó durante 10 min a 5000 rpm y a -15 °C. Se decantó el sobrenadante y se repitió el proceso dos veces más. El precipitado seco obtenido se disolvió en agua o en mezcla

agua/acetonitrilo, para los derivados acetilados, o en DMSO para los palmitoilados y se liofilizó para obtener el crudo final.

Los crudos se analizaron por HPLC-MS en fase reversa utilizando una columna SUNFIRE™ C18 (3.5 µm) de dimensiones 4.6 mm x 50 mm. Las muestras se analizaron utilizando un gradiente de CH₃CN + 0.005% ácido fórmico y H₂O + 0.005% ácido fórmico, a un flujo de 1 ml/min y con una detección en continuo a una longitud de onda entre 230-400 nm.

Siempre que fue necesario, el crudo de reacción se purificó por cromatografía de media presión, en cartuchos de fase reversa, utilizando un gradiente adecuado para cada producto o mediante HPLC semipreparativo.

EJEMPLO 3: Actividad de los péptidos sobre canales termo-TRP

El dominio TRP de los diferentes canales de potencial transitorio contiene varios grupos de residuos hidrófobos, algunos de ellos formando hélices superenrolladas necesarias para el ensamblaje del canal, y otros implicados supuestamente en la activación del canal (Tsuruda, P.R. y Juli, D., *Neuron*, 2006, 51: 201–212). Adicionalmente, estudios de mutagénesis dirigida han revelado la importancia funcional de conjuntos de aminoácidos aromáticos en diferentes localizaciones de las proteínas monoméricas que forman los canales (Su, Z. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, 104: 19607-19612). Estos hechos nos llevaron a evaluar nuestra colección de péptidos helicoidales frente a los canales TRPV1, TRPM8 y TRPA1, en la búsqueda de moduladores alostéricos que podrían explotar las IPPs que tienen lugar durante la formación y/o apertura de estos canales. Así, todos los componentes de nuestra colección fueron ensayados en los tres canales indicados, expresados de forma transitoria en los cultivos celulares apropiados, midiendo por microfluorografía las señales de Ca²⁺ intracelular inducidas por el agonista adecuado para cada canal, y usando un lector de fluorescencia. La mayoría de los componentes de la colección no mostraron actividad bloqueante (<15%) en ninguno de los canales TRP ensayados, mientras que algunos péptidos, principalmente con residuos de Tyr, bloquearon de forma significativa la actividad de TRPV1 y/o TRPA1 (>25%, Tabla 8). Ninguno de los péptidos ensayados mostró actividad en canales TRPM8. Es de destacar que los mejores bloqueantes de TRPV1 tienen el aminoácido alifático en la posición central (X⁹), aunque estos péptidos no mostraron en general selectividad con respecto a los receptores TRPA1. De hecho el péptido YLY es equipotente en ambos canales y el derivado con YIY en posiciones 5, 9 y 12 muestra una actividad inhibitoria mayor en TRPA1 que en TRPV1. Curiosamente, cuando el residuo

alifático se desplaza hacia el extremo C-terminal se obtienen compuestos selectivos para TRPA1. Así, los péptidos con residuos WYI, YFL and YYI en posiciones 5, 9 y 12 mostraron actividad bloqueante >60%, a una concentración de 50 μ M, y mantienen buena actividad inhibitoria a 5 μ M (>50%).

5

Tabla 8. Caracterización de los péptidos R-SSEEX⁵ARNX⁹AAX¹²N-NH₂

| Péptido Secuencia | HPLC t _R ^{a,b,c} (min) | [M+2H/2] ²⁺ Calculada (Masa exacta) | [M+2H/2] ²⁺ Encontrada (Masa exacta) | Pureza Crudo (%) | Rend (%) | Pureza final (%) ^{f,g} |
|-----------------------------------|--|---|--|------------------------|-------------|---------------------------------------|
| Ac-SSEELARNYAAFN-NH ₂ | 7.64 ^a | 757.35 | 757.15 | 78 | 30 | 97 ^f |
| Ac-SSEEFARNLAAFN-NH ₂ | 11.37 ^b | 749.35 | 749.20 | 54 | 22 | 97 ^f |
| Ac-SSEFYARNLAAFN-NH ₂ | 9.99 ^b | 757.35 (1512.7083) | 757.18 (1512.7079) | 73 | 13 | 97 ^f |
| Ac-SSEFYARNIAAYN-NH ₂ | 8.38 ^b | 765.35 | 765.18 | 63 | 8 | 85 ^f |
| Ac-SSEFYARNLAAYN-NH ₂ | 8.69 | 765.35 | 765.65 | 49 | 2 | 99 ^e |
| Ac-SSEEWARNYAAIN-NH ₂ | 9.73 | 776.85 | 776.65 | 81 | 18 | 95 ^c |
| Ac-SSEFYARNFAALN-NH ₂ | 10.03 ^b | 757.35 | 757.13 | 94 | 29 | 94 ^g |
| Ac-SSEFYARNYAAIN-NH ₂ | 8.22 ^b | 765.35 | 765.10 | 85 | 19 | 85 ^g |
| Pal-SSEEWARNWAALN-NH ₂ | 6.11 ^{c,e} | 886.07 | 886.56 | 80 | 27 | 80 ^g |
| Pal-SSEEFARNWAALN-NH ₂ | 6.28 ^{c,d} | 866.56 | 866.76 | 85 | 28 | 85 ^g |
| Pal-SSEEFARNYAALN-NH ₂ | 6.07 ^{c,d} | 854.85 | 855.29 | 81 | 45 | 81 ^g |
| Pal-SSEFYARNFAALN-NH ₂ | 5.95 ^{c,d} | 855.06 | 855.22 | 88 | 25 | 88 ^g |
| Pal-SSEFYARNWAALN-NH ₂ | 5.98 ^{c,d} | 874.56 | 874.88 | 83 | 30 | 83 ^g |

^aColumna C18 (Sunfire, 5 μ , 10 mm x 150 mm) usando un gradiente de 5 a 50 de ACN (0.08% HCO₂H)/H₂O (0.01% HCO₂H) en 15 min. ^bColumna C18 (Eclipse Plus, 4.6 x 150mm) usando un gradiente de 5 a 50 de ACN /H₂O (0.005% TFA) en 20 min. ^cHPLC-MS en fase reversa con la columna C₁₈ (Sunfire, 3.5 μ , 4.6 mm x 50 mm) usando un gradiente de 10 a 95^d o de 10 a 100^e % de ACN (0.005% HCO₂H)/H₂O (0.005% HCO₂H) en 10 min. ^fPurificado en cartuchos de fase reversa usando gradientes de ACN/H₂O. ^gNo purificado.

10

Tabla 9. Bloqueo de los canales TRPV1 y TRPA1 por los péptidos

| Péptido Secuencia | TRPV1 (%) ^{a,c} 50 μ M/5 μ M | TRPA1 (%) ^{b,c} 50 μ M/5 μ M |
|----------------------------------|--|--|
| Ac-SSEELARNYAAFN-NH ₂ | 24,54 \pm 0,93 18,24 \pm 6,36 | 11,29 \pm 3,47 18,85 \pm 8,86 |
| Ac-SSEEFARNLAAFN-NH ₂ | 25,17 \pm 4,13 23,93 \pm 3.86 | 19,09 \pm 11,17 26,05 \pm 5,96 |
| Ac-SSEFYARNLAAFN-NH ₂ | 39,08 \pm 7,87 | 21,11 \pm 8,03 |

| | | |
|------------------------------------|---|--|
| | 25,61 ±5,6 | 24,03±10,93 |
| Ac-SSEYARNIAAYN-NH ₂ | 24,81±7,40 24,09 ±3.56 | 41,82±10,05 17,95±3,06 |
| Ac-SSEYARNLAAYN-NH ₂ | 42,30±3,33 38,03 ±4,39 | 46,42±7,19 37,34±5,71 |
| Ac-SSEEWARNYAAIN-NH ₂ | 23,41±3,97 28,18 ±4,23 | 64,33±13,34 55,51±11,29 |
| Ac-SSEYARNFAALN-NH ₂ | 22,69±3,65 19,77 ±3,71 | 62,16±14,89 51,18±10,21 |
| Ac-SSEYARNYAAIN-NH ₂ | 21,95±2,32 18,63 ±3,33 | 62,30±9,73 51,38±9,80 |
| Pal-SSEEWARNWAALN-NH ₂ | 2,13±12,30 2,20±20,6 | 67,40±2,89 80,52±7,93 |
| Pal-SSEEFARNWAALN-NH ₂ | 5,18±14,67 4,02±24,84 | 59,59±2,80 94,70±6,66 |
| Pal-SSEEFARNYAAALN-NH ₂ | -6,05±11,67 7,65±17,39 | 96,47±12,20 82,42±8,27 |
| Pal-SSEYARNFAALN-NH ₂ | 20,07±18,64 3,48±18,74 | 16,98±19,88 65,15±27,60 |
| Pal-SSEYARNWAALN-NH ₂ | -1,29±15,11 -2,36±22,47 | 92,13±6,80 96,64±5,37 |

^a Bloqueo de la entrada de Ca²⁺ inducida por capsaicina a través de canal TRPV1. ^b Bloqueo de la entrada de Ca²⁺ inducida por alil-isotiocianato a través de canal TRPA1. ^c Los péptidos fueron ensayados a concentraciones de 50 y 5µM.

5 TRADUCCIÓN AL CASTELLANO DE TÉRMINOS EN INGLÉS QUE APARECEN EN LA LISTA DE SECUENCIAS

El término “sequence listing” significa “lista de secuencias”. El término “artificial sequence” significa “secuencia artificial”.

REIVINDICACIONES

1. Un péptido con capacidad de bloquear la activación de TRPV1 y/o TRPA1, en donde la estructura secundaria del péptido en disolución acuosa tiene al menos un 20% de hélice alfa, seleccionado entre:

a) un péptido de fórmula general (I) que comprende la secuencia de aminoácidos:



(I)

donde

R se selecciona entre H o R'-CO-, siendo R' un alquilo C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido o un alqueno C₂-C₂₀ sustituido o no sustituido,

X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan independientemente entre Phe, Trp, Tyr, Leu, Ile, Met o Ala; y

b) una variante del péptido definido en a),
y sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un péptido según la reivindicación 1 en donde R' se selecciona entre un alquilo C₁ no sustituido y un alquilo C₁₅ no sustituido.

3. Un péptido según las reivindicaciones 1 o 2 en donde el residuo carboxilo-terminal de dicho péptido presenta una modificación química.

4. Un péptido según la reivindicación 3 en donde la modificación química disminuye la susceptibilidad de dicho péptido a ser degradado por carboxipeptidasas.

5. Un péptido según la reivindicación 4 en donde la modificación química que disminuye la susceptibilidad de dicho péptido a ser degradado por carboxipeptidasas es una amidación.

6. Un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde al menos dos de los residuos X⁵, X⁹ y X¹² se seleccionan entre Phe, Trp y Tyr.

7. Un péptido según la reivindicación 6 en donde el residuo X⁵, X⁹ o X¹² que no se seleccionan entre Phe, Trp y Tyr se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala.

8. Un péptido según la reivindicación 7 en donde el residuo que se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala se selecciona entre Leu e Ile.
- 5 9. Un péptido según la reivindicación 7 en donde los residuos X^5 y X^{12} se seleccionan entre Phe, Trp y Tyr y el residuo X^9 se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala.
- 10 10. Un péptido según la reivindicación 7 en donde los residuos X^5 y X^9 se seleccionan entre Phe, Trp y Tyr y el residuo X^{12} se selecciona entre Leu, Ile, Met o Ala.
- 11 11. Un péptido según la reivindicación 8 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo formado por la secuencias SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 25.
- 12 12. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 13. Uso de un péptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en dolor, inflamación, prurito, enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio o como antitusivo.
- 20 14. Uso según la reivindicación 13 en donde el péptido se selecciona del grupo que consiste en
25
 - un péptido en donde X^5 es Leu, X^9 es Tyr y X^{12} es Phe,
 - un péptido en donde X^5 es Phe, X^9 es Leu y X^{12} es Phe,
 - un péptido en donde X^5 es Tyr, X^9 es Leu y X^{12} es Phe,
 - un péptido en donde X^5 es Tyr, X^9 es Ile y X^{12} es Tyr,
 - 30 - un péptido en donde X^5 es Tyr, X^9 es Leu y X^{12} es Tyr,
 - un péptido en donde X^5 es Trp, X^9 es Tyr y X^{12} es Ile,
 - un péptido en donde X^5 es Tyr, X^9 es Phe y X^{12} es Leu,
 - un péptido en donde X^5 es Tyr, X^9 es Tyr y X^{12} Ile yy la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en dolor, inflamación, prurito,
35 enfermedades de las vías respiratorias asociadas a inflamación, enfermedades de la

piel, mucosa y/o uñas asociadas a inflamación y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

15. Uso según la reivindicación 13 en donde el péptido se selecciona del grupo que
5 consiste en

- un péptido en donde X⁵ es Leu, X⁹ es Tyr y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Leu y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Leu y X¹² es Phe,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Ile y X¹² es Tyr,
- 10 - un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Leu y X¹² es Tyr,
- un péptido en donde X⁵ es Trp, X⁹ es Tyr y X¹² es Ile,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Phe y X¹² es Leu,
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Tyr y X¹² es Ile,
- un péptido en donde X⁵ es Trp, X⁹ es Trp y X¹² es Leu,
- 15 - un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Trp y X¹² es Leu,
- un péptido en donde X⁵ es Phe, X⁹ es Tyr y X¹² es Leu y
- un péptido en donde X⁵ es Tyr, X⁹ es Trp y X¹² es Leu

y la enfermedad se selecciona del grupo formado por prurito, una enfermedad de las vías respiratorias asociada a inflamación y una enfermedad de la piel, mucosa y/o
20 uñas asociada a inflamación o en donde se usa como antitusivo.

16. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 en donde el prurito es prurito crónico asociado a una dermatitis de contacto alérgica o prurito independiente de histamina.

25 17. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 en donde la enfermedad de la piel, mucosa y/o uñas asociada a inflamación se selecciona de psoriasis y dermatitis atópica.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ DE ELCHE
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

<120> PÉPTIDOS BLOQUEANTES DE TERMORECEPTORES Y SUS USOS

<130> P10008ES00

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 1

Ser Ser Glu Glu Leu Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Phe Asn
1 5 10

<210> 2
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 2

Ser Ser Glu Glu Phe Ala Arg Asn Leu Ala Ala Phe Asn
1 5 10

<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> SEQ ID NO: 4

<400> 3

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Leu Ala Ala Phe Asn
1 5 10

<210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

ES 2 532 749 B1

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 4

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Ile Ala Ala Tyr Asn
1 5 10

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 5

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Leu Ala Ala Tyr Asn
1 5 10

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 6

Ser Ser Glu Glu Trp Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 7

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Phe Ala Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 8

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Ile Asn

ES 2 532 749 B1

| | | |
|---|---|----|
| 1 | 5 | 10 |
|---|---|----|

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 9

| | | |
|---|---|----|
| Ser Ser Glu Glu Trp Ala Arg Asn Trp Ala Ala Leu Asn | | |
| 1 | 5 | 10 |

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 10

| | | |
|---|---|----|
| Ser Ser Glu Glu Phe Ala Arg Asn Trp Ala Ala Leu Asn | | |
| 1 | 5 | 10 |

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 11

| | | |
|---|---|----|
| Ser Ser Glu Glu Phe Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Leu Asn | | |
| 1 | 5 | 10 |

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<400> 12

| | | |
|---|---|----|
| Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Trp Ala Ala Leu Asn | | |
| 1 | 5 | 10 |

<210> 13

<211> 13

ES 2 532 749 B1

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETYLATION

 <400> 13

 Ser Ser Glu Glu Leu Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Phe Asn
 1 5 10

 <210> 14
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETYLATION

 <400> 14

 Ser Ser Glu Glu Phe Ala Arg Asn Leu Ala Ala Phe Asn
 1 5 10

 <210> 15
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETYLATION

 <400> 15

 Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Leu Ala Ala Phe Asn
 1 5 10

 <210> 16
 <211> 13
 <212> PRT

ES 2 532 749 B1

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLTATION

<400> 16

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Glu | Glu | Tyr | Ala | Arg | Asn | Ile | Ala | Ala | Tyr | Asn |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |

<210> 17

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLTATION

<400> 17

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Glu | Glu | Tyr | Ala | Arg | Asn | Leu | Ala | Ala | Tyr | Asn |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLTATION

<400> 18

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Glu | Glu | Trp | Ala | Arg | Asn | Tyr | Ala | Ala | Ile | Asn |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |

<210> 19

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

ES 2 532 749 B1

<220>
<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION

<400> 19

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Phe Ala Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 20
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION

<400> 20

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 21
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>
<221> LIPID
<222> (1)..(1)
<223> PALMITATE

<400> 21

Ser Ser Glu Glu Trp Ala Arg Asn Trp Ala Ala Leu Asn
1 5 10

<210> 22
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

ES 2 532 749 B1

<220>
 <223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>
 <221> LIPID
 <222> (1)..(1)
 <223> PALMITATE

<400> 22

Ser Ser Glu Glu Phe Ala Arg Asn Trp Ala Ala Leu Asn
 1 5 10

<210> 23
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>
 <221> LIPID
 <222> (1)..(1)
 <223> PALMITATE

<400> 23

Ser Ser Glu Glu Phe Ala Arg Asn Tyr Ala Ala Leu Asn
 1 5 10

<210> 24
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>
 <221> LIPID
 <222> (1)..(1)
 <223> PALMITATE

<400> 24

Ser Ser Glu Glu Tyr Ala Arg Asn Phe Ala Ala Leu Asn
 1 5 10

<210> 25
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

ES 2 532 749 B1

<223> Péptido inhibidor de TRPV1 y/o TRPA1

<220>

<221> LIPID

<222> (1)..(1)

<223> PALMITATE

<400> 25

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Glu | Glu | Tyr | Ala | Arg | Asn | Trp | Ala | Ala | Leu | Asn |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | |



- ②① N.º solicitud: 201331424
②② Fecha de presentación de la solicitud: 30.09.2013
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| A | WO 2012098281 A2 (UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE et al.) 26.07.2012, todo el documento. | 1-17 |
| A | ES 2385683 A1 (BCN PEPTIDES, S.A.) 30.07.2012, todo el documento. | 1-17 |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
27.04.2015

Examinador
M. Novoa Sanjurjo

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07K7/08 (2006.01)

A61K38/10 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P17/04 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07K, A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 27.04.2015

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)

Reivindicaciones 1-17
Reivindicaciones

SI
NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)

Reivindicaciones 1-17
Reivindicaciones

SI
NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

Consideraciones:

La invención consiste en una familia de péptidos de estructura helicoidal, de 13 aminoácidos y de fórmula general $\text{SSEEX}^5\text{ARNX}^9\text{AAX}^{12}\text{N}$, capaces de bloquear la activación de los termorreceptores TRPV1 y/o TRPA1. Los péptidos fueron diseñados con herramientas bioinformáticas utilizando la longitud de los péptidos y el número de residuos aromáticos como factores importantes para la obtención de productos moduladores de las interacciones proteína-proteína (modulador-receptor). Posteriormente los péptidos seleccionados, fueron obtenidos por síntesis química para realizar con ellos pruebas de actividad farmacológica. Los péptidos de la invención, se utilizan en el tratamiento del dolor, inflamación, enfermedades respiratorias, desórdenes asociados con desequilibrios del calcio, etc.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|-----------|---|-------------------|
| D01 | WO 2012098281 A2 (UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE et al.) | 26.07.2012 |
| D02 | ES 2385683 A1 (BCN PEPTIDES, S.A.) | 30.07.2012 |

El documento D01, describe péptidos derivados de los receptores TRPV1, TRPM8 y TRPA1 capaces de bloquear sus correspondientes canales receptores. Los péptidos descritos se utilizan en el tratamiento del dolor, inflamación, enfermedades respiratorias y desórdenes asociados con desequilibrios del calcio.

El documento D02, describe péptidos para el tratamiento del dolor, que tienen una secuencia de entre 3-40 aminoácidos de la secuencia de la proteína SNAP-25.

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Los documentos citados solo muestran el estado general de la técnica y no se consideran de particular relevancia, ya que para una persona experta en la materia, no sería obvio aplicar las características de los documentos citados y llegar a la invención tal y como se menciona en las reivindicaciones 1-17. Por lo tanto, el objeto de la presente solicitud cumple los requisitos de novedad y actividad inventiva de acuerdo con los Artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes 11/1986.