



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 009 237**

⑮ Int. Cl.:

A61K 38/21 (2006.01)
A61P 17/04 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2021** PCT/GB2021/050630

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **16.09.2021** WO21181115

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2021** E 21712206 (8)

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2024** EP 4117709

⑮ Título: **Composiciones y métodos relacionados con el tratamiento de enfermedades**

⑩ Prioridad:

12.03.2020 GB 202003595

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

26.03.2025

⑮ Titular/es:

ILC THERAPEUTICS LTD (100.00%)
Biocity Scotland, Bo'ness Road
Newhouse, Lanarkshire ML1 5UH, GB

⑮ Inventor/es:

MCKENZIE, CHRISTOPHER y
STIMSON, WILLIAM

⑮ Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 009 237 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos relacionados con el tratamiento de enfermedades

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones y métodos para prevenir o tratar prurito, prurigo, dermatosis neutrofílicas y cáncer de piel. La invención se extiende a composiciones para prevenir o tratar afecciones donde una respuesta Th2 exagerada desempeña un papel perjudicial. La invención se extiende adicionalmente a composiciones y al uso de las composiciones de la invención para el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo y dermatosis neutrofílicas para terapias Humanas y Veterinarias.

Antecedentes de la invención

10 Una respuesta de Th2 sobre-reactiva puede ser la base de las afecciones inflamatorias, en particular enfermedades de la piel inflamatorias pruríticas. Actualmente se cree que las células Th2 desempeñan un papel importante en la defensa del anfitrión patógenos y una respuesta exagerada de Th2 puede conducir a enfermedades, tales como prurito, prurigo y cáncer de piel, en particular linfoma cutáneo de células T.

15 El prurito se define como una sensación desagradable que provoca el deseo de rascarse. Es un rasgo característico de muchas enfermedades de la piel y un signo inusual de algunas enfermedades sistémicas. Se sabe desde hace tiempo que ciertas enfermedades sistémicas causan prurito que varía en intensidad desde una ansiedad leve hasta una afección incapacitante intratable. El prurito generalizado puede clasificarse en las siguientes categorías basándose en la enfermedad causante subyacente: prurito renal, prurito colestásico, prurito hematológico, prurito endocrino, prurito relacionado con neoplasias malignas y prurito generalizado idiopático. El prurito, o picor, se asocia 20 más comúnmente con un trastorno de la piel primario tal como xerosis, urticaria, ataque de artrópodos, mastocitosis, dermatitis herpetiforme o penfigoide.

25 Prurigo es un término utilizado para indicar un grupo de trastornos de la piel caracterizados por pápulas o nódulos intensamente pruríticos y difíciles de tratar. La más conocida de estas afecciones es el prurigo nodularis, que típicamente presenta nódulos de picor que afectan a las extremidades, y consiste histológicamente en hiperqueratosis y acantosis, con proyecciones hacia abajo de la epidermis. Una afección similar, el prurigo papular (dermatitis papular; prurigo crónico de adultos) consiste en lesiones más pequeñas, y se presenta principalmente en mujeres de mediana edad.

30 El prurito puede ser un síntoma de algunas dermatosis inflamatorias y autoinmunitarias, incluyendo afecciones tales como enfermedades ampollosas autoinmunitarias y enfermedades del tejido conectivo. Las enfermedades ampollosas autoinmunitarias (EAAI) son un grupo heterogéneo de dermatosis graves caracterizadas por la presencia de 35 autoanticuerpos contra moléculas de adhesión cutánea e incluyen Penfigoide Ampolloso, Grupo de Pénfigo y Dermatitis Herpetiforme. Las enfermedades de los tejidos conectivos incluyen Esclerosis Sistémica, Morfea, Lupus Eritematoso Distémico, Dermatomiositis, Síndrome de Sjögren y Vitílico.

35 El linfoma cutáneo de células T (LCCT) es un tipo raro de linfoma no Hodgkin que afecta a la piel. Se desarrolla cuando las células T (también llamadas linfocitos T) se vuelven anormales. Existen diferentes tipos de LCCT, los más comunes se denominan micosis fungoides y síndrome de Sézary.

40 Se sabe que diferentes patógenos inducen diferentes subtipos de interferón alfa (IFN- α) *in vitro* y que los subtipos de IFN- α tienen diferentes actividades antivirales, antiproliferativas e inmunomoduladoras. Se ha demostrado que la infección a través de una variedad de vías induce diferentes perfiles de subtipos. Los subtipos de IFN- α se unen a los mismos receptores, activan rutas de señalización comunes y se esperaba que tuvieran funciones inmunológicas similares. Todos los subtipos de IFN- α tienen actividades antivirales, por definición, aunque su eficacia absoluta en este contexto puede variar considerablemente. Además, se han descrito muchas otras propiedades biológicas, pero con potencias variables, incluyendo actividades inmunomoduladoras y antiproliferativas. Los efectos pleiotrópicos parecen deberse a la interacción diferencial con las cadenas receptoras y la señalización a través de diferentes rutas intracelulares a una serie de moléculas efectoras. El receptor de IFN de Tipo I consiste en dos cadenas, IFNR1 e IFNR2. Existe un intervalo de afinidades de unión para cada uno de los 12 subtipos de IFN- α con las diferentes cadenas receptoras. IFN α -14 tiene una de las mayores afinidades por ambos receptores de interferón, que es por lo que es tan activo comparado con los otros 11 subtipos.

45 El IFN- α puede tener un papel clave en la regulación de las respuestas de Th2. Se ha demostrado que el tratamiento con IFN- α suprime el desarrollo de células Th2 a través de la supresión de la expresión génica de IL4 e IL13. Por lo tanto, el IFN- α es capaz de restablecer un equilibrio de población de Th2 en enfermedades e infecciones que promueven un desequilibrio de células Th2. En los últimos años, resultó evidente que además de sus efectos antivirales, el IFN- α ejerce varias funciones inmunomoduladoras. IFN- α puede impactar en la diferenciación de células dendríticas y controla la expresión de diversas citocinas proinflamatorias tales como IL8 o IL18 e induce varios mediadores antiinflamatorios tales como antagonista del receptor de IL1 (IL1Ra), receptor de TNF soluble p55, proteína de unión a IL10 e IL18. Sin embargo, los mecanismos de acciones de IFN- α , y en particular los subtipos individuales de IFN- α , todavía se entienden solo parcialmente.

Existe una necesidad significativa no satisfecha de un tratamiento tópico, seguro y eficaz que pueda utilizarse para tratar el prurito y el prurigo.

Compendio de la invención

Los autores de la presente invención sostienen que sería deseable desarrollar un enfoque inmunoterapéutico mejorado para el tratamiento y/o profilaxis del prurito, prurigo y dermatosis neutrofílicas. Puesto que el prurito resulta de la sobre-reactividad de las células Th2 y una sobreproducción correspondiente de ciertas citocinas, una medicación que sea capaz de modificar y equilibrar una respuesta de Th2 mal dirigida y la sobreproducción de citocinas relacionadas sería beneficiosa para tratar el prurito. Tal medicación sería adicionalmente adecuada para tratar enfermedades y afecciones donde una respuesta exagerada de Th2 desempeña un papel, como en el prurito y el prurigo.

Las dermatosis neutrofílicas son un grupo heterogéneo de trastornos inflamatorios de la piel caracterizados por infiltrados estériles predominantemente neutrofílicos en la histopatología. Puede considerarse que es un término general para procesos principalmente epidérmicos o dérmicos con evidencia variable de cambios vasculíticos primarios o secundarios. Comprenden síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide, enfermedad de Still en adultos, principalmente DN ampollosa, epidérmica y vasculítica. Los autores de la presente invención consideran que el IFN- α 14, por ejemplo, SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma, HYBRID 1, por ejemplo, SEQ ID NO: 2 o una variante o fragmento de la misma o HYBRID 2, por ejemplo, SEQ ID NO: 3 o una variante o fragmento de la misma como se describe en el presente documento tienen utilidad en el tratamiento de dermatosis neutrofílica ya que demuestran actividades anti-células mieloídes (Neutrófilos).

Los autores de la presente invención sostienen que existe la necesidad de proporcionar un tratamiento tópico que pueda desactivar las citocinas/quimiocinas en la capa de queratinocitos que sean quimiotácticas para neutrófilos y basófilos/mastocitos que provocan prurito y trastornos inflamatorios en la piel.

La presente invención se refiere a composiciones y métodos para prevenir o tratar afecciones donde una respuesta exagerada de Th2 desempeña un papel perjudicial, tales como prurito, prurigo y dermatosis neutrofílica. La invención se extiende adicionalmente al uso de las composiciones de la invención en el tratamiento y/o profilaxis del prurito y el prurigo. Adecuadamente, los trastornos inflamatorios de la piel de la presente invención se pueden distinguir de la inflamación asociada con procesos infecciosos y neoplásicos.

Tras una amplia experimentación, los autores de la presente invención han determinado sorprendentemente que la administración de IFN- α 14, por ejemplo, SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma, HÍBRIDO 1, por ejemplo, SEQ ID NO: 2 o una variante o fragmento de la misma o HÍBRIDO 2, por ejemplo, SEQ ID NO: 3 o una variante o fragmento de la misma como se describe en el presente documento da como resultado la supresión o inhibición de diversas citocinas asociadas con la respuesta inmunitaria en el prurito. Los autores de la presente invención determinaron inesperadamente que IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 pueden interaccionar directamente para desactivar las citocinas en la capa de queratinocitos que son quimiotácticas para neutrófilos y basófilos/mastocitos que provocan prurito y otros trastornos inflamatorios en la piel. Los autores de la presente invención demostraron que IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 inhiben estas quimiocinas incluso bajo la influencia de TNF- α . Sorprendentemente, este efecto se demuestra cuando se administran por vía tópica IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2. IFN- α 14 es una molécula grande de 17.000 Dalton y fue inesperado que esta molécula pasara a través de la piel. Lo que fue más sorprendente fue que los autores de la presente invención encontraron inesperadamente que el efecto de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 sobre las quimiocinas en queratinocitos se observara cuando se proporcionaban por vía tópica. Los autores de la presente invención consideran que los efectos tópicos de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 son más selectivos y útiles para el prurito y trastornos inflamatorios de la piel en comparación con el efecto más indiscriminado cuando se proporcionan IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 a la sangre completa, tanto por el efecto pleiotrópico como por el hecho de que se ponen en contacto más tejidos con IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2.

Los autores de la presente invención también han establecido que las moléculas híbridas con IFN recombinantes conocidas en el presente documento como HÍBRIDO 1 (SEQ ID: 2) e HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO: 3) también tienen una alta afinidad de unión a los receptores de interferón, y demostrarán un efecto sobre las quimiocinas implicadas en el prurito y los trastornos inflamatorios de la piel, incluyendo dermatosis neutrofílicas, en particular para desactivar o inhibir las quimiocinas en la capa de queratinocitos que son quimiotácticas para neutrófilos y basófilos/mastocitos que provocan prurito en la piel.

Los autores de la presente invención han examinado la capacidad de los interferones alfa sintéticos, interferón alfa-14 (SEQ ID NO:1), HÍBRIDO 1 (SEQ ID NO:2) e HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO:3), para inhibir la producción de interleucina-31 (IL31). IL31 es una citocina que desempeña un papel importante en la inducción del prurito y, sin desear estar limitados por la teoría, se considera que es importante en trastornos inflamatorios de la piel tales como dermatosis neutrofílicas. Los autores de la presente invención determinaron muy sorprendentemente que IFN- α 14 (SEC ID NO 1), HÍBRIDO 1 (SEC ID NO 2) e HÍBRIDO 2 (SEC ID NO 3) inhiben IL31. Los autores de la presente invención han examinado la inhibición de IL31 en comparación con Interferón-alfa-2b (Roferón). Sorprendentemente, el Interferón-alfa14 (SEC ID NO 1), HÍBRIDO 1 (SEC ID NO 2) e HÍBRIDO 2 (SEC ID NO 3) son activos contra la producción de IL31 y suprinen o inhiben la producción de IL31, mientras que el Interferón-alfa2b (Roferón) no muestra actividad inhibidora.

Los subtipos de interferón IFN- α 10 e IFN- α 14 e híbridos de los mismos se comentan en la Publicación PCT Número WO2014/037717 y la Publicación PCT Número WO2015/136287. En particular, se divultan híbridos de IFN- α 10-IFN- α 14 que contienen secuencias características de los sitios de unión de los subtipos IFN- α 10 e IFN- α 14 basadas en

5 α 14 e híbridos de los mismos también se comentan en la Publicación PCT Número WO2017/046583. En particular, se divultan híbridos IFN- α 10-IFN- α 14 que tienen sitios de unión de alta afinidad derivados de los subtipos IFN- α 10 e IFN- α 14 que no se basan en una secuencia consenso de los 12 subtipos de IFN- α . Los híbridos obtienen las características de secuencia de los subtipos IFN- α 10 e IFN- α 14 sin las características de secuencia de los otros 10 subtipos de interferón-alfa.

10 Aunque no desean estar limitados por la teoría, los autores de la presente invención creen que las proteínas que comprenden la secuencia de aminoácidos de IFN- α 10 tienen mayor afinidad por el receptor de interferón 2 (IFNR2) y las proteínas que comprenden la secuencia de aminoácidos de IFN- α 14 tienen mayor afinidad por el receptor de interferón 1 (IFNR1). Por lo tanto, se considera que la sustitución de una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de IFN- α 10 por aminoácidos de IFN- α 14 que permite la unión al receptor de interferón 1 o la sustitución

15 de una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de IFN- α 14 por aminoácidos de IFN- α 10 que permite la unión al receptor de interferón 2 proporciona una proteína híbrida de IFN- α 10 y IFN- α 14 que debe tener una afinidad de unión más fuerte a ambos receptores de interferón 1 y 2 que IFN- α 10 o IFN- α 14 solos. Por incluir los sitios de unión al receptor de interferón primario de IFN- α 10 e IFN- α 14 se entiende que el híbrido comprende aminoácidos seleccionados entre IFN- α 10 y sustituidos en una secuencia de aminoácidos de IFN- α 14 para mejorar la capacidad de un subtipo de IFN- α 14 para unirse a un receptor de interferón 2 y/o que el híbrido comprende aminoácidos

20

seleccionados entre IFN- α 14 y sustituidos en una secuencia de aminoácidos de IFN- α 10 para mejorar la capacidad de un subtipo de IFN- α 10 para unirse a un receptor de interferón 1.

25 Adecuadamente, varias sustituciones de aminoácidos de proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de IFN- α 10 por aminoácidos de IFN- α 14 que se determina que están implicados en la unión al receptor de interferón 1 pueden potenciar la unión de la proteína al receptor de interferón 1. Adecuadamente, una sustitución de aminoácidos de proteína que comprende una secuencia de aminoácidos de IFN- α 14 por aminoácidos de IFN- α 10 que se determina que están implicados en la unión al receptor de interferón 2 puede potenciar la unión de la proteína al receptor de interferón 2.

30 En realizaciones, el híbrido IFN- α 10-IFN- α 14 puede tener sustancialmente la secuencia de aminoácidos de IFN- α 10, pero puede modificarse en una región entre los restos de aminoácidos 80 a 150, o adecuadamente entre los restos de aminoácidos 84 a 144, o adecuadamente los restos de aminoácidos 92 a 115 o adecuadamente entre los restos de aminoácidos 90 a 110, (utilizando la numeración de la secuencia de IFN- α 10) para proporcionar los aminoácidos proporcionados por la secuencia de IFN- α 14. Se considera que los restos de aminoácidos en estas regiones o partes de estas regiones proporcionan la unión de IFN- α 14 al receptor de interferón 1. En particular, la secuencia híbrida puede incluir al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 o al menos 11 modificaciones de la secuencia de IFN- α 10 para proporcionar los restos correspondientes de la secuencia de IFN- α 14 o una mutación conservada de la misma. En realizaciones, se proporcionan once modificaciones como se indica por los aminoácidos indicados en negrita.

35

**CDLPQTHSICGRRALILIGQNGRISPPFSLKDRHDFRIPQEETFQHQFQEAQALSVLNEM
KQOTPNLFSTKSSAANDLLEKXKIEFQKQHLEAVCIVCEVGVVEETPLMNEDSILAY
KTYTQRTIYLKIZKYSPPCANEVVRASIMRSLAEOTMLOQERLAKD**
(HIBRIDO 2: SEQ ID NO: 3)

40 En realizaciones, la secuencia híbrida de IFN- α 10-IFN- α 14 puede incluir al menos una mutación seleccionada entre aminoácidos en las posiciones 94, 101, 102, 109 o 144, preferiblemente al menos dos mutaciones seleccionadas entre aminoácidos en las posiciones 94, 101, 102, 109 o 144, más preferiblemente al menos tres mutaciones seleccionadas entre aminoácidos en las posiciones 94, 101, 102, 109 o 144, más preferiblemente al menos cuatro mutaciones seleccionadas entre aminoácidos en las posiciones 94, 101, 102, 109 o 144 o más preferiblemente al menos cinco mutaciones seleccionadas entre aminoácidos en las posiciones 94, 101, 102, 109 o 144. En realizaciones alternativas, IFN- α 14 se puede utilizar como una estructura de la cadena principal del híbrido y los restos que difieren entre las secuencias de IFN- α 10 e IFN- α 14 en las regiones N- y C-terminales de las secuencias se pueden proporcionar en la secuencia híbrida como los presentes en la secuencia de IFN- α 10. Adecuadamente, se pueden realizar al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 o al menos 11 sustituciones de la secuencia N-terminal de IFN- α 14 para proporcionar la secuencia híbrida para proporcionar restos de IFN- α 10 en aquellas posiciones de aminoácidos en donde los aminoácidos no son compartidos/comunes entre IFN- α 10 e IFN- α 14. Adecuadamente, se proporcionan al menos 1, al menos 2 o 3 sustituciones en la secuencia C-terminal de IFN- α 14 para proporcionar restos de IFN- α 10 a la secuencia híbrida en aquellas posiciones de aminoácidos que no son compartidas/comunes entre IFN- α 10 e IFN- α 14. En realizaciones, se realizan al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 o al menos 11 sustituciones de la secuencia N-terminal y al menos 1, al menos 2 o 3 sustituciones de

la secuencia C-terminal del IFN- α 14 para proporcionar restos de IFN- α 10 al híbrido en aquellas posiciones de aminoácidos que tienen aminoácidos que no son compartidos/comunes entre IFN- α 10 e IFN- α 14.

En realizaciones, IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o un fragmento o variante funcionalmente activos de la misma.

5 En realizaciones, el híbrido comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o un fragmento o variante funcionalmente activos de la misma.

En realizaciones, el híbrido comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o un fragmento o variante funcionalmente activos de la misma.

10 Por funcionalmente activo se entiende un polipéptido híbrido IFN- α 10-IFN- α 14 que comprende los sitios de unión a interferón primario de IFN- α 10 e IFN- α 14 en donde la administración de péptido a un sujeto o la expresión de péptido en un sujeto promueve la supresión de una respuesta inmunitaria mediada por Th2. Adicionalmente, la actividad funcional puede estar indicada por la capacidad de un péptido híbrido para suprimir una respuesta mediada por Th2.

15 Un fragmento puede comprender al menos 50, preferiblemente 100 y más preferiblemente 150 o más aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 1, 2 o 3 y que es funcionalmente activo. Adecuadamente, un fragmento se puede determinar utilizando, por ejemplo, delección en serie C-terminal de ADNc. Dichas construcciones de delección se pueden clonar después en plásmidos adecuados. La actividad de estos mutantes de delección puede probar después para determinar la actividad biológica como se describe en el presente documento.

20 Por variante se entiende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3, más preferiblemente al menos 80% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3, más preferiblemente al menos 90% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3, incluso más preferiblemente al menos 95% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3, incluso más preferiblemente al menos 96% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3, incluso más preferiblemente al menos 97% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3 y lo más preferiblemente al menos 98% homóloga a SEQ ID NO: 1, 2 o 3. Una variante abarca una secuencia polipeptídica de SEQ ID NO: 1, 2 o 3 que incluye sustitución de aminoácidos, especialmente una o varias sustituciones que se sabe que tienen una alta probabilidad de no conducir a ninguna modificación significativa de la actividad o configuración biológica, o plegamiento, de la proteína. Estas sustituciones, típicamente conocidas como sustituciones conservativas, son conocidas en la técnica. Por ejemplo, el grupo de arginina, lisina e histidina son aminoácidos alcalinos intercambiables conocidos. Adecuadamente, en realizaciones, los aminoácidos de la misma carga, tamaño o carácter hidrófobo se pueden sustituir entre sí. Adecuadamente, se puede seleccionar cualquier sustitución basándose en el análisis de alineamientos de secuencias de aminoácidos de subtipos de interferón alfa para proporcionar sustituciones de aminoácidos por aminoácidos que están presentes en otros subtipos alfa en posiciones similares o idénticas cuando las secuencias se alinean. Los híbridos, y variantes y fragmentos de los mismos se pueden generar utilizando métodos de biología molecular adecuados como se conoce en la técnica.

25 Los autores de la presente invención también consideran que existe alguna relevancia para el uso de IFN- α 14 (SEQ ID NO: 1), HÍBRIDO 1 (SEQ ID NO: 2) o HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO: 3) como tratamiento tópico con relación a las capas subepidérmicas de la piel. Sin desear estar limitados por ninguna teoría, se considera que una porción de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 puede pasar a través de la piel a la capa dérmica inferior, donde hay muchos leucocitos, especialmente Th2 que libera IL31. IL31 induce quimiocinas y otras citocinas en condiciones pruríticas a través de su receptor de superficie. IL31 es una potente citocina pruritogénica y su administración sistémica y local induce un comportamiento de rascado en roedores, perros y monos.

30 40 Los autores de la presente invención han determinado sorprendentemente que la administración de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, en particular SEQ ID NO: 1, 2 o 3 o una variante o fragmento de las mismas, como tratamiento tópico da como resultado una mayor reducción o inhibición de IL31 en queratinocitos en comparación con medicaciones tópicas previas. Además, los autores de la presente invención han determinado que se pueden utilizar dosis muy bajas de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, por ejemplo, hasta 5×10^3 UI/ml o 5×10^4 UI/ml de crema tópica.

45 Los autores de la presente invención también indican que a medida que el IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma, se difunden hacia abajo a la capa dérmica inferior, también puede desactivar o inhibir TNF- α , lo que también da como resultado la inhibición de quimiocinas tales como IL17, p. ej., IL17A, IL17B, IL17F y/o IL22.

50 Esto ha llevado a la identificación por los autores de la presente invención de composiciones terapéuticas mejoradas que tienen utilidad en el tratamiento y/o profilaxis del prurito, prurigo y enfermedades y afecciones donde juega un papel una respuesta de Th2 exagerada.

La invención se reivindica en las reivindicaciones 1 a 8.

Se divulga un método para el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo, dermatosis nucleofílicas o cáncer de piel, comprendiendo dicho método la etapa de:

(i) administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN- α 14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2.

- 5 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
- En realizaciones, el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 1 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.
- En realizaciones, el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 2 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.
- 10 Se divulga que el método de administración es la administración tópica. Se divulga que el método de administración es sublingual. Sin desear estar limitados por la teoría en ambos métodos de administración, se considera que se proporcionaría una concentración de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 de manera que no se indujeran efectos sistémicos del interferón. Por tanto, los efectos de quimiocinas e interleucinas se pueden conseguir sin causar (o causar solo mínimamente) efectos anti-virales o anti-proliferativos.
- 15 Se consideraría que esta administración se distingue del suministro sistémico de interferones en la técnica que han proporcionado dosis farmacológicas. Tales dosis farmacológicas activarían las propiedades antivirales/bacterianas de tales interferones (por ejemplo, como se habría observado después de la administración de IFN α 2c en la técnica) - causando efectos secundarios y anulando los efectos de regulación inmunitaria asociados a baja concentración observados por los autores de la presente invención después de la administración tópica. Típicamente, las dosis tópicas pueden ser 100 - 1000 x menos que las dosis sistémicas y permiten el control de la respuesta inmunitaria en el compartimento de la piel solamente.
- 20 En realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz del subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 es una dosis baja (hasta 5×10^4 Unidades UI o 5×10^3 unidades UI/ml). En realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz del subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 es menor que los tratamientos sistémicos actuales para el prurito u otras afecciones pruríticas o trastornos inflamatorios, por ejemplo, dermatosis neutrofílicas.
- 25 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 se administra a una dosis de 5 UI/ml, 10 UI/ml, 50 UI/ml, 1×10^2 UI/ml, 1×10^3 UI/ml, 1×10^4 UI/ml, 1×10^5 UI/ml, 1×10^6 UI/ml, 1×10^7 UI/ml o 1×10^8 UI/ml.
- 30 Los autores de la presente invención han elucidado que los subtipos de interferón alfa causan una respuesta variada tanto entre sí, como dependiendo de la dosis (conduciendo la dosis alta a efectos sistémicos - antivirales y antiproliferativos) y efectos de baja dosis de quimiocina e interleucina a un nivel no sistémico y que la respuesta puede variar dependiendo del tejido.
- 35 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 se administra a una dosis de 0,1 mg a 1 mg, 1 mg a 3 mg, 3 mg a 5 mg o 5 mg a 10 mg. Por ejemplo, en aplicaciones tópicas humanas se pueden utilizar 5×10^4 UI/ml de crema o menos. En animales, p. ej., perros, el uso sublingual puede ser 10^4 UI/kg, por ejemplo, en 1 ml de PBS.
- 40 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 se administra por vía tópica una vez al día, dos veces al día, tres veces al día o cuatro veces al día. Típicamente para la administración sublingual, la dosis se proporcionaría una vez al día.
- 45 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 interactúa directamente para desactivar o inhibir las citocinas/quimiocinas en la capa de queratinocitos. En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 interactúa directamente para desactivar las citocinas en la capa de queratinocitos que son quimiotácticas para neutrófilos y basófilos/mastocitos que causan prurito en la piel. En realizaciones, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 pasa a través de la piel a la capa dérmica inferior donde efectúa la producción de quimiocinas.
- 50 En ciertas realizaciones, el sujeto puede sufrir una afección donde se desea la supresión de una respuesta inmunitaria mediada por Th2. En ciertas realizaciones, el sujeto puede sufrir prurito. En ciertas realizaciones, el sujeto puede sufrir prurigo. En ciertas realizaciones, el sujeto puede sufrir dermatosis neutrofílicas.
- 55 En realizaciones, el prurito es prurito renal, prurito colestásico, prurito hematológico, prurito endocrino, prurito relacionado con neoplasia maligna y prurito generalizado idiopático. En realizaciones, el prurito se asocia más comúnmente con un trastorno de la piel primario tal como xerosis, urticaria, ataque de artrópodos, mastocitosis, dermatitis herpetiforme o penfigoide.
- 60 En realizaciones, el prurigo es prurigo nodularis. En realizaciones, el prurigo es prurigo papular (dermatitis papular; prurigo crónico de adultos).

En realizaciones, las dermatosis neutrofílicas pueden seleccionarse entre síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide, enfermedad de Still del adulto, principalmente DN ampollosa, epidérmica y vasculítica.

- 5 En ciertas realizaciones, el prurito es un síntoma de dermatosis inflamatorias o autoinmunitarias. En realizaciones, las dermatosis inflamatorias o autoinmunitarias donde el prurito es un síntoma es una enfermedad ampollosa autoinmunitaria (EAAI) o una enfermedad del tejido conectivo. En realizaciones, las enfermedades ampollosas autoinmunitarias son Penfigoide Ampolloso, Grupo de Pénfigo o Dermatitis Herpetiforme. En realizaciones, la enfermedad de los tejidos conectivos es Esclerosis Sistémica, Morfea, Lupus Eritematoso Sistémico, Dermatomiositis, Síndrome de Sjogren o Vitílico.

Típicamente, el sujeto es un mamífero, en particular un ser humano. En realizaciones, el sujeto puede ser un animal, por ejemplo, pero sin limitarse a un animal de compañía tal como un perro.

- 15 De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN- α 14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo o dermatosis neutrofílicas en donde el subtipo de interferón alfa IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 1 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; y en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 2 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

- 20 En ciertas realizaciones, el subtipo de interferón alfa, se administrará por vía tópica. En ciertas realizaciones, el subtipo de interferón alfa, se puede administrar sublingualmente. Esto puede ser particularmente ventajoso para tratamientos veterinarios.

- 25 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis baja como se analiza en el presente documento; en donde la dosis baja es de hasta 5×10^3 UI/ml o 5×10^4 UI/ml. En realizaciones, el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis muy baja. En realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz del subtipo de interferón alfa es menor que los tratamientos sistémicos actuales para el prurito.

En realizaciones, el subtipo de interferón alfa se puede administrar a una dosis de 5 UI/ml, 10 UI/ml, 50 UI/ml, 1×10^2 UI/ml, 1×10^3 UI/ml, 1×10^4 UI/ml, 1×10^5 UI/ml, 1×10^6 UI/ml, 1×10^7 UI/ml o 1×10^8 UI/ml.

- 30 En realizaciones, el subtipo de interferón alfa se puede administrar en una dosis de 0,1 mg a 1 mg, 1 mg a 3 mg, 3 mg a 5 mg o 5 mg a 10 mg.

En realizaciones, el subtipo de interferón alfa se puede administrar una vez al día, dos veces al día, tres veces al día o cuatro veces al día. Adecuadamente, en la administración sublingual, se puede proporcionar una dosis única cada día.

- 35 En realizaciones, el prurito es prurito renal, prurito colestásico, prurito hematológico, prurito endocrino, prurito relacionado con neoplasia maligna y prurito generalizado idiopático. En realizaciones, el prurito se asocia más comúnmente con un trastorno de la piel primario tal como xerosis, urticaria, ataque de artrópodos, mastocitosis, dermatitis herpetiforme o penfigoide.

En realizaciones, el prurigo es prurigo nodularis. En realizaciones, el prurigo es prurigo papular (dermatitis papular; prurigo crónico de adultos).

- 40 En realizaciones, las dermatosis neutrofílicas pueden comprender síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide, enfermedad de Still del adulto, principalmente DN ampollosa, epidérmica y vasculítica. En realizaciones, las dermatosis neutrofílicas pueden comprender síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide y enfermedad de Still del adulto.

45 En ciertas realizaciones, el prurito es un síntoma de una dermatosis inflamatoria o autoinmunitaria. En realizaciones, las dermatosis inflamatorias o autoinmunitarias en donde el prurito es un síntoma son una enfermedad ampollosa autoinmunitaria (EAAI) o una enfermedad del tejido conectivo. En realizaciones, las enfermedades ampollosas autoinmunitarias son Penfigoide Ampolloso, Grupo de Pénfigo o Dermatitis Herpetiforme. En realizaciones, la enfermedad de los tejidos conectivos es Esclerosis Sistémica, Morfea, Lupus Eritematoso Sistémico, Dermatomiositis, Síndrome de Sjogren o Vitílico.

50 También se divulga el uso de un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN-14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, en la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo, dermatosis neutrofílicas, cáncer de piel o una afección donde se desea la supresión de una respuesta inmunitaria mediada por Th2.

- De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición que comprende un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN- α 14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo o dermatosis neutrofílicas; en donde el IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 1 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 2 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.
- 5 También se divulga una composición farmacéutica que comprende un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN- α 14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, para su uso en el tratamiento y/o profilaxis del prurito, prurigo, dermatosis neutrofílicas, cáncer de piel o una afección donde se desea la supresión de una respuesta inmunitaria mediada por Th2.
- 10 También se divulga un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN- α 14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, para su uso en la modulación de una respuesta inmunitaria, modulando adecuadamente una respuesta inmunitaria en la piel, pero no sistémicamente en un sujeto.
- 15 En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.
- En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 1 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.
- 20 En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 2 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.
- En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, la composición o composición farmacéutica se administran por vía tópica. En ciertas realizaciones, el subtipo de interferón alfa se puede administrar sublingualmente. Esto puede ser particularmente ventajoso para tratamientos veterinarios.
- 25 En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis baja. En realizaciones, el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis muy baja. En realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz del subtipo de interferón alfa es menor que los tratamientos sistémicos actuales para el prurito.
- 30 En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis de 5 UI/ml, 10 UI/ml, 50 UI/ml, 1×10^2 UI/ml, 1×10^3 UI/ml, 1×10^4 UI/ml, 1×10^5 UI/ml, 1×10^6 UI/ml, 1×10^7 UI/ml o 1×10^8 UI/ml.
- En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis de 0,1 mg a 1 mg, 1 mg a 3 mg, 3 mg a 5 mg o 5 mg a 10 mg.
- 35 En realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de interferón alfa se administra una vez al día, dos veces al día, tres veces al día o cuatro veces al día. Adecuadamente, en la administración sublingual, se puede proporcionar una dosis única cada día.
- En realizaciones, el prurito es prurito renal, prurito colestásico, prurito hematológico, prurito endocrino, prurito relacionado con neoplasia maligna y prurito generalizado idiopático. En realizaciones, el prurito se asocia más comúnmente con un trastorno de la piel primario tal como xerosis, urticaria, ataque de artrópodos, mastocitosis, dermatitis herpetiforme o penfigoide.
- 40 En realizaciones, el prurigo es prurigo nodularis. En realizaciones, el prurigo es prurigo papular (dermatitis papular; prurigo crónico de adultos).
- En realizaciones, las dermatosis neutrofílicas pueden comprender síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide, enfermedad de Still del adulto, principalmente DN ampollosa, epidérmica y vasculítica. En realizaciones, las dermatosis neutrofílicas pueden comprender síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide y enfermedad de Still del adulto.
- 45 En ciertas realizaciones, el prurito es un síntoma de una dermatosis inflamatoria o autoinmunitaria. En realizaciones, las dermatosis inflamatorias o autoinmunitarias en donde el prurito es un síntoma es una enfermedad ampollosa autoinmunitaria (EAAI) o una enfermedad del tejido conectivo. En realizaciones, las enfermedades ampollosas autoinmunitarias son Penfigoide Ampolloso, Grupo de Pénfigo o Dermatitis Herpetiforme. En realizaciones, la enfermedad de los tejidos conectivos es Esclerosis Sistémica, Morfea, Lupus Eritematoso Sistémico, Dermatomiositis, Síndrome de Sjogren o Vitílico.

En ciertas realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de IFN- α comprende, consiste en o es IFN- α 14 tal como una proteína de fusión, o proteína recombinante o similar y en particular que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma. En realizaciones, el IFN- α 14 puede estar glicosilado.

5 En ciertas realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de IFN- α comprende, consiste en o es HÍBRIDO 1 tal como una proteína de fusión, o proteína recombinante o similar y en particular que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2.

10 En ciertas realizaciones de los aspectos de la invención indicados anteriormente, el subtipo de IFN- α comprende, consiste en o es HÍBRIDO 2 tal como una proteína de fusión, o proteína recombinante o similar y en particular que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un polipéptido recombinante que comprende o consiste en SEQ ID NO: 1. La invención se extiende a secuencias de ácido nucleico derivadas de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

15 En un aspecto adicional de la invención se proporciona un polipéptido recombinante que comprende o consiste en SEQ ID NO: 2. La invención se extiende a secuencias de ácido nucleico derivadas de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un polipéptido recombinante que comprende o consiste en SEQ ID NO: 3. La invención se extiende a secuencias de ácido nucleico derivadas de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

20 **Descripción detallada de la invención**

Los autores de la presente invención han determinado sorprendentemente que la administración de IFN- α 14, por ejemplo SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma, híbridos IFN- α 14/IFN- α 10 tales como HÍBRIDO 1, por ejemplo SEQ ID NO: 2 o una variante o fragmento de la misma o HÍBRIDO 2, por ejemplo SEQ ID NO: 3 o una variante o fragmento de la misma, como se describe en el presente documento da como resultado la supresión o inhibición de diversas citocinas asociadas con la respuesta inmunitaria en el prurito. Sorprendentemente, este efecto se potencia cuando el IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 se administran por vía tópica.

SEQ ID NO: 1 es IFN α -14 y se puede definir de la siguiente manera:

CNLSQTHSLNNRRTLMLMA QMRRISPFSCLKDRHDFEF
QEEFDGNQFQKAQAIISVLHE MMQQTFNLFSTKNSSAAWDE
TLLEKFYIELFQQMNDLEAC VIQEVGVEETPLMNEDSILA
VKKYFQRITLYLMEKKYSPC AWEVVRAEIMRSLSFSTNLQ KRLRRKD

SEQ ID NO: 2 es HÍBRIDO 1 y se puede definir de la siguiente manera:

CDLPQTHSLGNRRALILLGQMGRISPFSCLKDRHDFRIPQEEFDGNQFQKAQAIISVLHEM
MQQTFNLFST ~~KNSSAAWDE~~ TLLEKFYIELFQQMNDLEAC VIQEVGVEETPLMNEDSILA
RKYFQRITLYLIERKYSPCAWEVVRAEIMRSLSFSTNLQ KRLRRKD

SEQ ID NO: 3 es HÍBRIDO 2 y se puede definir de la siguiente manera:

CDLPQTHSLGNRRALILLGQMGRISPFSCLKDRHDFRIPQEEFDGNQFQKAQAIISVLHEM
~~MQQTFNLFST KNSSAAWDE TLLEKFYIELFQQMNDLEAC VIQEVGVEETPLMNEDSILA~~
KKYFQRITLYLIERKYSPCAWEVVRAEIMRSLSFSTNLQ KRLRRKD

En particular, los autores de la presente invención han determinado que IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, HÍBRIDO 1 (SEQ ID NO: 2) o HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO: 3) o una variante o fragmento de las mismas, se dirige a citocinas específicas en queratinocitos asociados con prurito, por ejemplo, IL31. IL31 es una citocina inflamatoria que ayuda a desencadenar la inmunidad mediada por células contra patógenos. IL31 es producida por una variedad de células, concretamente células T cooperadoras de tipo 2 (Th2). Durante la inflamación dominada por Th2 y en ciertos tumores en los que están implicadas Th2 (LCCT), así como prurito, prurigo, dermatosis neutrofílicas y cáncer de piel, IL31 se libera de células Th2 activadas que se dirigen a la piel. IL31 se une al receptor IL31RA (complejo receptor IL31RA/OSMR β) en las terminaciones nerviosas sensoriales en la piel. Como mecanismo de amplificación, IL31A se comunica con canales iónicos tales como TRPV1 que dan como resultado una señalización de Ca potenciada, activación de STAT3 y probablemente otras rutas de transducción de señales en neuronas sensoriales. La Figura 10 demuestra la ruta prurítica.

Los autores de la presente invención han demostrado que la molécula natural IFN α -14, en particular SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o una variante o fragmento de la misma, elimina o desactiva IL31 en queratinocitos a

dosis muy bajas. Estos hallazgos se pueden aplicar para proporcionar un método mejorado y una composición mejorada para tratar y/o prevenir el prurito y el prurito.

En queratinocitos humanos, IL31 induce varios genes de quimiocina que se han asociado con inflamación atópica de la piel tales como CCL1, CCL17 y CCL22. Por lo tanto, niveles elevados de IL31 en lesiones pruríticas pueden potenciar la inflamación de la piel a través de la inducción de quimiocinas, que posteriormente conducen al reclutamiento de células T. A su vez, las células T infiltrantes de piel activadas pueden convertirse en nuevas fuentes de IL31, amplificando de este modo la inflamación atópica de la piel y el prurito.

El prurito o la piel que pica se define como una sensación desagradable que provoca el deseo de rascarse. El prurito generalizado puede clasificarse en las siguientes categorías basándose en la enfermedad causante subyacente: prurito renal, prurito colestásico, prurito hematológico, prurito endocrino, prurito relacionado con neoplasia maligna y prurito generalizado idiopático. El prurito, o picor, se asocia más comúnmente con un trastorno de la piel primario tal como xerosis, urticaria, ataque de artrópodos, mastocitosis, dermatitis herpetiforme o penfogoide. El rascado inducido por picor parece exacerbar las lesiones de la piel en la dermatitis clínica y experimental. El picor y el rascado causan pérdida del sueño y alteran gravemente la calidad de vida de los individuos afectados. Por lo tanto, el tratamiento específico del picor o prurito en lugar de tratar simplemente el trastorno primario de la piel es críticamente importante para aliviar los síntomas.

El picor está mediado por fibras C no mielinizadas y fibras de Ad ligeramente mielinizadas originadas a partir de cuerpos celulares en el ganglio de la raíz dorsal. Se sabe que diversos pruritógenos endógenos y exógenos tales como histamina, 5-hidroxitriptamina, proteasas, sustancia P y cloroquina inducen la sensación de picor. Cada pruritógeno media el picor a través de un receptor específico. Las neuronas periféricas específicas del picor son positivas para el receptor A3 acoplado a proteína G relacionado con Mas (MargprA3) - esto se conoce porque la ablación genética de las neuronas positivas para MargprA3 atenua las respuestas de rascado a la cloroquina y la histamina sin afectar a los comportamientos del dolor. El mecanismo neuronal de la sensación de picor no se entiende completamente; sin embargo, la ruta de picor histaminérgico utiliza el canal catiónico del receptor de potencial transitorio de subtipo 1 vainilloide (Trpv1) como una diana aguas abajo directa. En el picor no histaminérgico, algunos pruritógenos (p. ej., cloroquina) utilizan el canal catiónico del receptor de potencial transitorio de subtipo 1 anquirina (Trpa1).

Prurigo es un término utilizado para indicar un grupo de trastornos de la piel caracterizados por pápulas o nódulos intensamente pruríticos, y difíciles de tratar. La más conocida de estas afecciones es el prurigo nodularis, que típicamente presenta nódulos de picor que afectan a las extremidades, y consiste histológicamente en hiperqueratosis y acantosis, con proyecciones hacia abajo de la epidermis. Una afección similar, el prurigo papular (dermatitis papular; prurigo crónico de adultos) consiste en lesiones más pequeñas, y se presenta principalmente en mujeres de mediana edad.

El linfoma cutáneo de células T (LCCT) es un tipo raro de linfoma no Hodgkin que afecta a la piel. Se desarrolla cuando las células T (también llamadas linfocitos T) se vuelven anormales. Existen diferentes tipos de LCCT, los más comunes se denominan micosis fungoides y síndrome de Sézary.

Las dermatosis inflamatorias y autoinmunitarias donde el prurito es un síntoma incluyen afecciones tales como enfermedades ampollosas autoinmunitarias y enfermedades del tejido conectivo. Las enfermedades ampollosas autoinmunitarias (EAAI) son un grupo heterogéneo de dermatosis graves caracterizadas por la presencia de autoanticuerpos contra moléculas de adhesión cutánea e incluyen Penfogoide Ampolloso, Grupo de Pénfogo y Dermatitis Herpetiforme. Las enfermedades de los tejidos conectivos incluyen Esclerosis Sistémica, Morfea, Lupus Eritematoso Sistémico, Dermatomiositis, Síndrome de Sjogren y Vítílico.

Además de los mediadores químicos, se está prestando atención creciente a la interleucina-31 (IL31) y su receptor como mediador de picor desde el descubrimiento de la acción pruritogénica de IL31 en ratones en 2004. De hecho, la administración sistémica y local de IL31 induce un comportamiento de rascado en roedores, perros y monos cinomolgos. El ensayo de punción con una solución de IL31 desencadena la sensación de picor en seres humanos.

La interleucina-4 (IL4) induce la expresión génica y la liberación de IL31, pero los detalles de todos los tipos celulares implicados en la producción de IL31 han permanecido poco claros. Las células dendríticas humanas son capaces de producir IL31, pero en un grado mucho menor que las células Th2. Los basófilos y mastocitos humanos también secretan IL31 y pueden causar urticaria crónica. Los eosinófilos humanos también pueden liberar IL31.

La IL31 y su receptor, IL31RA, se expresan altamente en diversas líneas celulares de cáncer humano y de ratón, así como en especímenes tumorales de pacientes con cáncer. Se ha demostrado que el eje IL31/IL31R está implicado en el cáncer de piel, en particular el linfoma cutáneo de células T. Se demostró que las células tumorales producen IL31, cuyos niveles séricos se correlacionaron con la intensidad del prurito. Los niveles epidérmicos de IL31 se correlacionan con la gravedad del picor en el linfoma cutáneo de células T.

Los autores de la presente invención consideran que IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 actúan sobre CXCL8 (IL8). IL8, una quimiocina de queratinocitos es un atrayente de neutrófilos, basófilos y mastocitos, que provoca la liberación de muchas sustancias que dañan los tejidos. CXCL8 (IL8) es la citocina primaria implicada en el reclutamiento de

neutrófilos al sitio de lesión o infección; un proceso denominado quimiotaxis. Varias variables son esenciales para la quimiotaxis satisfactoria de neutrófilos, incluyendo el aumento de expresión de moléculas de adhesión de alta afinidad para asegurar el neutrófilo al endotelio cerca del sitio afectado (y, por lo tanto, no se lava en el sistema circulatorio), y que el neutrófilo puede digerir su camino a través de la membrana basal y la matriz extracelular (MEC) para alcanzar el sitio afectado. CXCL8 desempeña un papel clave en la inducción de la señalización celular necesaria para provocar estos cambios. IL8 es responsable de la liberación de histamina de mastocitos y basófilos. En el sitio de infección, la liberación de histamina provoca vasodilatación de los capilares cerca de la zona lesionada que ralentiza el flujo sanguíneo en la región y estimula los leucocitos, tales como neutrófilos, a acercarse al endotelio, y alejarse del centro de la luz en donde la velocidad de flujo sanguíneo es la más alta. Una vez que esto ocurre, se realizan interacciones débiles entre las selectinas expresadas en las células neutrofílicas y endoteliales (cuya expresión también aumenta a través de la acción de CXCL8 y otras citocinas).

Los autores de la presente invención consideran que IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 actúan sobre IL6. IL6 es un factor de crecimiento de queratinocitos comúnmente asociado con estrés y fiebre. IL6 es un reactivo de fase aguda y puede ser tanto pro- como antiinflamatorio. La IL6 puede actuar antes de la producción de IL17 inhibiendo la generación de células Th17 y después suprimiendo la producción de IL6 que aumenta la proliferación de queratinocitos.

Los autores de la presente invención han determinado que la administración de IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, HÍBRIDO 1 (SEQ ID NO: 2) o HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO: 3) o una variante o fragmento de la misma, da como resultado una reducción de 10%, preferiblemente 20%, preferiblemente 30%, preferiblemente 40%, preferiblemente 50%, preferiblemente 60%, preferiblemente 70%, preferiblemente 80% y más preferiblemente 90% mayor de IL31 en comparación con medicaciones tópicas previas.

Los autores de la presente invención han determinado sorprendentemente que la administración de IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1 o una variante o fragmento de la misma, da como resultado la supresión de IL31, CXCL8 (IL8) o IL6 en queratinocitos en 50%, preferiblemente en 60%, preferiblemente en 70%, preferiblemente en 80%, preferiblemente en 90%, preferiblemente en 91%, preferiblemente en 92%, preferiblemente en 93%, preferiblemente en 94%, preferiblemente en 95%, preferiblemente en 96%, preferiblemente en 97% y más preferiblemente en 98%.

Los autores de la presente invención han determinado sorprendentemente que la administración de IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, da como resultado la supresión de IL31, CXCL8 (IL8) o IL6 en queratinocitos a dosis bajas como se analiza en el presente documento. HÍBRIDO 1 y HÍBRIDO 2 muestran efectos funcionales similares.

El tratamiento de la presente invención se puede administrar a una dosis de 5 UI/ml, 10 UI/ml, 50 UI/ml, 1×10^2 UI/ml, 1×10^3 UI/ml, 1×10^4 UI/ml, 1×10^5 UI/ml, 1×10^6 UI/ml, 1×10^7 UI/ml o 1×10^8 UI/ml.

El tratamiento de la presente invención se puede administrar a una dosis de 0,1 mg a 1 mg, 1 mg a 3 mg, 3 mg a 5 mg o 5 mg a 10 mg.

El tratamiento de la presente invención se puede administrar por vía tópica una vez al día, dos veces al día, tres veces al día o cuatro veces al día.

Además, los autores de la presente invención han determinado que la administración o el uso de IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, HÍBRIDO 1 (SEQ ID NO: 2) o HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO: 3), da como resultado la inhibición completa o parcial de IL31 y/o la inhibición completa o parcial de CXCL8 (IL8) y/o la inhibición completa o parcial de IL6 en queratinocitos.

Por otra parte, los autores de la presente invención han determinado sorprendentemente que la administración tópica de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, en particular SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, puede dar como resultado el direccionamiento de las citocinas relevantes en la capa de queratinocitos como se analiza en el presente documento. La presente invención proporciona un tratamiento tópico superior que es seguro y eficaz en prurito leve, moderado y grave. Este tratamiento demuestra un perfil de bajo efecto secundario. Se requieren dosis bajas de la medicación y el producto natural, IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 no muestra citotoxicidad in vitro incluso a la concentración más alta (1×10^8 UI/ml).

Los autores de la presente invención han demostrado en queratinocitos de cultivos de piel humana normal que se activaron con TNF- α para inducir la secreción de quimiocinas (IL8), que IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, suprimía la secreción de IL8 directamente en >80%. Además, los autores de la presente invención demostraron que la adición de HÍBRIDO 1, en particular SEQ ID NO: 2 o HÍBRIDO 2, en particular SEQ ID NO: 3, dio como resultado una fuerte inhibición de la secreción de IL31. Estos resultados son una indicación clara de la superioridad potencial de IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, HÍBRIDO 1, en particular SEQ ID NO: 2 o HÍBRIDO 2, en particular SEQ ID NO: 3, sobre los productos biológicos sistémicos existentes.

El autor de la presente invención, aunque no desea estar limitado por la teoría, ha identificado que la administración tópica de IFN- α 14, en particular SEQ ID NO: 1, HÍBRIDO 1, en particular SEQ ID NO: 2 o HÍBRIDO 2, en particular SEQ ID NO: 3, se puede utilizar para tratar el prurito y el prurito. Los autores de la presente invención han demostrado que, a pesar de su peso molecular relativamente alto, IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, en particular SEQ ID NO: 1,

SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, muestran buen potencial de permeación a través de la piel y, por lo tanto, el desarrollo de formulaciones clínicamente viables que permiten el suministro de dosis terapéuticas de este péptido a través de la piel proporciona un enfoque inesperado para tratar o prevenir estas afecciones pruríticas.

Definiciones

5 Fragmento

Un fragmento puede comprender al menos 50, preferiblemente 100 y más preferiblemente 150 o más aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3 y que es funcionalmente activo. Adecuadamente, un fragmento se puede determinar utilizando, por ejemplo, delección en serie C-terminal de ADNc. Dichas construcciones de delección se pueden clonar después en plásmidos adecuados. La actividad de estos mutantes de delección se puede probar después para determinar la actividad biológica como se describe en el presente documento. Los fragmentos se pueden generar utilizando métodos de biología molecular adecuados como se conoce en la técnica.

Variante

Por variante se entiende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, más preferiblemente al menos 80% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, más preferiblemente al menos 90% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, incluso más preferiblemente al menos 95% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, incluso más preferiblemente al menos 96% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, incluso más preferiblemente al menos 97% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3, y lo más preferiblemente al menos 98% homóloga a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. Una variante abarca una secuencia polipeptídica de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3 que incluye sustitución de aminoácidos, especialmente una o varias sustituciones que se sabe que tienen una alta probabilidad de no conducir a ninguna modificación significativa de la actividad o configuración biológica, o plegamiento, de la proteína. Estas sustituciones, típicamente conocidas como sustituciones conservativas, son conocidas en la técnica. Por ejemplo, el grupo de arginina, lisina e histidina son aminoácidos alcalinos intercambiables conocidos. Adecuadamente, en realizaciones, los aminoácidos de la misma carga, tamaño o carácter hidrófobo se pueden sustituir entre sí. Adecuadamente, cualquier sustitución se puede seleccionar basándose en el análisis de alineamientos de secuencias de aminoácidos de subtipos de interferón alfa para proporcionar sustituciones de aminoácidos por aminoácidos que están presentes en otros subtipos alfa en posiciones similares o idénticas cuando las secuencias se alinean. Las variantes se pueden generar utilizando métodos de biología molecular adecuados como se conoce en la técnica.

30 Sujeto

Como se define en el presente documento, un "sujeto" incluye y engloba mamíferos tales como seres humanos, primates y ganado (p. ej., ovejas, cerdos, ganado vacuno, caballos, burros); animales de prueba de laboratorio tales como ratones, conejos, ratas y cobayas; y animales de compañía tales como perros y gatos.

Tratamiento/Terapia

35 El término "tratamiento" se utiliza en el presente documento para referirse a cualquier régimen que pueda beneficiar a un ser humano o animal no humano. El tratamiento puede ser con respecto al prurito, prurigo o cáncer de piel y el tratamiento puede ser profiláctico (tratamiento preventivo). El tratamiento puede incluir efectos curativos o paliativos. La referencia en el presente documento al tratamiento "terapéutico" y "profiláctico" se debe considerar en su contexto más amplio. El término "terapéutico" no implica necesariamente que un sujeto se trate hasta la recuperación total. De 40 manera similar, "profiláctico" no significa necesariamente que el sujeto no contraerá eventualmente una afección patológica. Por consiguiente, el tratamiento terapéutico y/o profiláctico incluye la mejora de los síntomas de una afección prurítica particular o la prevención o reducción de otro modo del riesgo de desarrollar una afección prurítica particular. Se puede considerar que el término "profiláctico" reduce la gravedad o el inicio de una afección particular. "Terapéutico" también puede reducir la gravedad de una afección existente.

45 Administración

50 Los ingredientes activos utilizados en la presente invención, en particular el subtipo de interferón IFN- α 14, por ejemplo, SEQ ID NO: 1, HÍBRIDO 1 (SEQ ID NO: 2) o HÍBRIDO 2 (SEQ ID NO: 3), como se describe en el presente documento, se puede administrar por separado al mismo sujeto, opcionalmente de forma secuencial, o se puede coadministrar simultáneamente como una composición farmacéutica o inmunogénica. La composición farmacéutica comprenderá generalmente un excipiente, diluyente o portador farmacéutico adecuado seleccionado dependiendo de la vía de administración prevista.

Los ingredientes activos se pueden administrar a un paciente que necesite tratamiento mediante cualquier vía adecuada. La dosis precisa dependerá de varios factores, como se analiza a continuación con más detalle.

Una vía de administración adecuada es la tópica, p. ej., aplicada directamente a la piel.

Una vía adecuada es la sublingual.

Composiciones farmacéuticas

Como se ha descrito anteriormente, la presente invención se extiende a una composición farmacéutica para el tratamiento del prurito, prurigo o cáncer de piel.

- 5 Las composiciones farmacéuticas según la presente invención, y para su uso según la presente invención, pueden comprender, además de un ingrediente activo, un excipiente, portador, estabilizante de tampón u otros materiales farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica. Tales materiales no deben ser tóxicos y no deben interferir en la eficacia del ingrediente activo. La naturaleza precisa del portador u otro material dependerá de la vía de administración, que puede ser, por ejemplo, oral, intravenosa, intranasal o mediante inhalación oral o nasal. La formulación puede ser un líquido, por ejemplo, una solución salina fisiológica que contiene tampón sin fosfato a pH 6,8-7,6, o un polvo liofilizado o secado mediante congelación.
- 10

Dosis

- 15 La composición se administra preferiblemente a un individuo en una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad deseada", siendo esto suficiente para mostrar beneficio al individuo. Como se define en el presente documento, el término "cantidad eficaz" significa una cantidad necesaria para obtener al menos parcialmente la respuesta deseada, o para retrasar el inicio o inhibir la progresión o detener completamente el inicio o la progresión de una afección particular que se está tratando. La cantidad varía dependiendo de la salud y el estado físico del sujeto que se está tratando, el grupo taxonómico del sujeto que se está tratando, el grado de protección deseado, la formulación de la composición, la evaluación de la situación médica y otros factores relevantes. Se espera que la cantidad caiga en un intervalo relativamente amplio, que se puede determinar mediante ensayos rutinarios. La prescripción del tratamiento, p. ej., decisiones sobre la dosificación, etc., está en última instancia dentro de la responsabilidad y a criterio de los facultativos generales, médicos u otros doctores en medicina, y típicamente tiene en cuenta el trastorno que va a tratarse, la afección del paciente individual, el sitio de suministro, el método de administración y otros factores conocidos por los facultativos. La dosis óptima puede ser determinada por médicos basándose en varios parámetros que incluyen, por ejemplo, edad, sexo, peso, gravedad de la afección que se está tratando, el ingrediente activo que se está administrando y la vía de administración. Puede ser aplicable un amplio intervalo de dosis. Considerando la administración oral a un paciente humano, por ejemplo, se pueden administrar de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 1000 µg de agente por dosis a seres humanos, opcionalmente durante 3 a 4 dosis. Los regímenes de dosificación se pueden ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima y reducir los efectos secundarios. Por ejemplo, se pueden administrar varias dosis divididas diariamente, semanalmente, mensualmente u otros intervalos de tiempo adecuados o la dosis se puede reducir proporcionalmente como se indique por las exigencias de la situación.
- 20
- 25
- 30

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el significado comúnmente entendido por una persona experta en la técnica en el campo de la presente invención.

35

Enfermedad autoinmunitaria

Se entiende que el término "enfermedad autoinmunitaria", como se emplea en el presente documento, significa cualquier enfermedad o afección que está causada por los tejidos del organismo que son atacados por su propio sistema inmunitario.

- 40 A lo largo de la memoria descriptiva, a menos que el contexto exija lo contrario, se entenderá que los términos "comprenden" o "incluyen", o variaciones tales como "comprende" o "que comprende", "incluye" o "que incluye" implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros indicado, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

- 45 La presente invención se ilustrará ahora con referencia a las siguientes figuras y ejemplos no limitantes que se proporcionan con fines ilustrativos y se no pretende que se interpreten como limitantes de la presente invención. Otras realizaciones de esta invención serán evidentes para los expertos en la técnica a la vista de esta descripción.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un gráfico que demuestra el efecto de IFNa-14 sobre la producción de CXCL8 (IL8) a partir de queratinocitos humanos.

- 50 La Figura 2 muestra un gráfico que demuestra el efecto de IFNa-14 sobre la producción de IL6 de queratinocitos humanos.

La Figura 3 muestra un gráfico que demuestra el efecto de IFNa-14 sobre la producción de IL31 a partir de leucocitos humanos.

La Figura 4 muestra un gráfico que demuestra el efecto de HÍBRIDO 1 sobre la producción de IL31 a partir de leucocitos humanos.

La Figura 5 muestra un gráfico que demuestra el efecto de HÍBRIDO 2 sobre la producción de IL31 a partir de leucocitos humanos.

La Figura 6 muestra un gráfico que demuestra el efecto del Interferón-Alfa Humano 2a (Roferón) sobre la producción de IL31 a partir de leucocitos humanos.

5 La Figura 7 muestra la secuencia de aminoácidos de IFN- α 14.

La Figura 8 muestra la secuencia de aminoácidos de HÍBRIDO 1.

La Figura 9 muestra la secuencia de aminoácidos de HÍBRIDO 2.

La Figura 10 demuestra la ruta prurítica.

Datos experimentales

10 **Experimento 1: Efecto de IFN α -14 sobre la producción de IL-6 y CXCL8 (IL8) en queratinocitos de piel humana normal**

Los autores de la presente invención probaron el efecto de IFN α -14 en queratinocitos de piel humana normal que se activaron con TNF- α para inducir la secreción de quimiocinas.

15 La Figura 1 demuestra que IFN α -14 suprime la secreción de CXCL8 (IL8) directamente en >80%. La Figura 1 indica una fuerte inhibición de CXCL8 (IL8) en presencia de IFN α -14 y en particular a bajas concentraciones de IFN α -14. CXCL8 es un contribuyente principal a la inflamación. Atrae neutrófilos y basófilos/mastocitos al sitio de inflamación - este último libera histamina y muchos otros agentes nocivos, p. ej., prostaglandinas, leucotrienos.

20 La Figura 2 demuestra la inhibición de la producción de IL6 en presencia de IFN α -14 y en particular a bajas concentraciones de IFN α -14. La IL-6 es un reaccionante de fase aguda que aumenta en el trauma y se emplea ampliamente como un factor de crecimiento/estimulante auxiliar. IL6 es un factor de crecimiento comúnmente asociado con el estrés.

Experimento 2: Efecto de IFN α -14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 sobre la producción de IL31 en leucocitos humanos

Ensayo de estimulación de sangre completa

25 Se diluyó sangre humana completa reciente (50 UI/ml de heparina conservante) 1/10 con medio RPMI 1640 con penicilina/estreptomicina, L-glutamina y calcio. Esto se incubó con o sin PHA-P (100 μ g/ml) en presencia de un intervalo de concentraciones de rIFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 durante 24 horas a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5% en aire en una incubadora humidificada. Las concentraciones de IFN utilizadas fueron 0, 1, 5, 10, 50, 100, 1.000, 10.000, 100.000 y 1.000.000 UI/ml. Cada concentración de IFN (1 ml) se cultivó por triplicado en placas de 12 pocillos.

30 Después de 24 horas de incubación, los sobrenadantes se recogieron en tubos de microcentrífuga marcados individuales y se centrifugaron a 11.000 RPMI durante 5 minutos en una microcentrífuga. Después, las muestras se recogieron y se almacenaron en tubos de microcentrífuga marcados a -20°C para someter a ensayo mediante ELISA.

Procedimiento típico de ELISA

35 Un día antes del comienzo del ensayo, se recubrió una placa de ELISA de fondo plano de 96 pocillos con 100 μ l del Anticuerpo de Captura correspondiente, según las instrucciones del fabricante.

Al día siguiente, se dejó que los reactivos y sobrenadantes de ELISA se calentaran hasta temperatura ambiente, y la placa de ELISA recubierta se lavó cuatro veces con tampón de lavado (1x solución salina tamponada con fosfato + Tween 20 al 0,05% (v/v), y se añadieron 200 μ l de diluyente de ensayo a cada pocillo para prevenir la unión de anticuerpos no específicos, y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora, con agitación (500 rpm).

40 La placa se lavó 4 veces, y se añadieron 100 μ l de patrones diluidos y muestras a los pocillos apropiados. La placa se selló a continuación y se incubó durante 2 horas con agitación.

Después de 4 ciclos de lavado adicionales, se añadieron 100 μ l de anticuerpo de detección a cada pocillo, seguido de una incubación adicional de 1 hora a temperatura ambiente, con agitación. La placa se lavó 4 veces más, y se añadió solución diluida de Avidina-HRP a cada pocillo, seguido de una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, con agitación. La placa se lavó después un total de 5 veces, permitiendo de 30 segundos a 1 minuto de remojo entre lavados, antes de añadir 100 μ l de solución de Sustrato durante 15 minutos en oscuridad.

45 Después de 15-45 minutos, o cuando los pocillos patrón alcanzan el color deseado, 100 μ l de solución de parada (H₂SO₄ 1M) y la placa se leyó mediante espectrofotometría, típicamente a longitudes de onda de 450 y 570 nm.

Resultados

Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 3 a 5. La Figura 3 demuestra que IFN α -14 inhibe la producción de IL31 en leucocitos humanos. La Figura 3 indica una fuerte inhibición de IL31 en presencia de IFN α -14 y en particular a bajas concentraciones de IFN α -14.

5 La Figura 4 demuestra que HÍBRIDO 1 inhibe la producción de IL31 en leucocitos humanos. La Figura 4 indica una fuerte inhibición de IL31 en presencia de HÍBRIDO 1 y en particular a bajas concentraciones de HÍBRIDO 1.

La Figura 5 demuestra que HÍBRIDO 2 inhibe la producción de IL31 en leucocitos humanos. La Figura 5 indica una fuerte inhibición de IL31 en presencia de HÍBRIDO 2 y en particular a bajas concentraciones de HÍBRIDO 2.

10 A modo de comparación, los autores de la presente invención utilizaron Interferón-Alfa Humano 2a (Roferón) para demostrar que sería inesperado que un subtipo de interferón alfa inhibiera IL31. La Figura 6 demuestra una falta de supresión de la producción de IL-31 por el Interferón Alfa-2a Humano (Roferón) en leucocitos humanos.

Estos resultados demuestran sorprendentemente que la administración de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2 da como resultado una mayor reducción o inhibición de IL31 en queratinocitos en comparación con medicaciones previas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de al menos dos de IFN- α 14, HÍBRIDO 1 e HÍBRIDO 2 para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo o dermatosis neutrofílicas; en donde el IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 1 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; y en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 2 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.
- 10 2. El subtipo de interferón alfa de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo o dermatosis neutrofílicas, en donde el subtipo de interferón alfa se administra por vía tópica o mediante administración sublingual.
- 15 3. El subtipo de interferón alfa de la reivindicación 2 para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo o dermatosis neutrofílicas, en donde el subtipo de interferón alfa se administra a una dosis baja; en donde la dosis baja es de hasta 5×10^3 UI/ml o 5×10^4 UI/ml.
- 15 4. El subtipo de interferón alfa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de una afección seleccionada entre prurito o prurigo.
- 20 5. El subtipo de interferón alfa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de dermatosis neutrofílicas.
- 20 6. El subtipo de interferón alfa de la reivindicación 5 para su uso en el tratamiento de dermatosis neutrofílicas en donde las dermatosis neutrofílicas se seleccionan de la lista que comprende síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide, enfermedad de Still del adulto, principalmente DN ampollosa, epidérmica y vasculítica.
- 25 7. El subtipo de interferón alfa de la reivindicación 5 para su uso en el tratamiento de dermatosis neutrofílicas en donde las dermatosis neutrofílicas se seleccionan de la lista que comprende síndrome de Sweet (SS), hidradenitis ecrina neutrofílica (HEN), enfermedad de Behcet (EB), pioderma gangrenosa (PG), síndrome de dermatosis-artritis asociado al intestino, dermatitis neutrofílica reumatoide y enfermedad de Still del adulto.
- 30 8. Una composición que comprende un subtipo de interferón alfa, en donde el subtipo de interferón alfa es IFN- α 14, HÍBRIDO 1, HÍBRIDO 2 o una combinación de IFN- α 14 e HÍBRIDO 1 o HÍBRIDO 2, para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de prurito, prurigo o dermatosis neutrofílicas; en donde el IFN- α 14 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 1 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y en donde el subtipo de interferón alfa HÍBRIDO 2 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

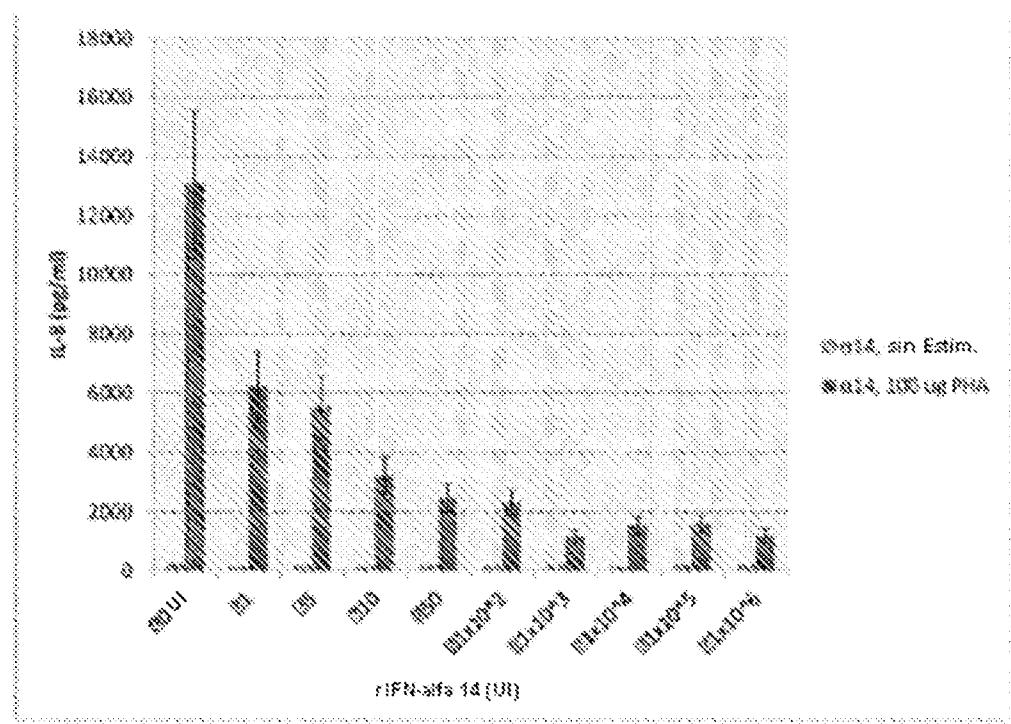


FIGURA 1 - La síntesis de CXCL8 (IL-8) es suprimida por bajos niveles de Interferón Alfa-14 Humano

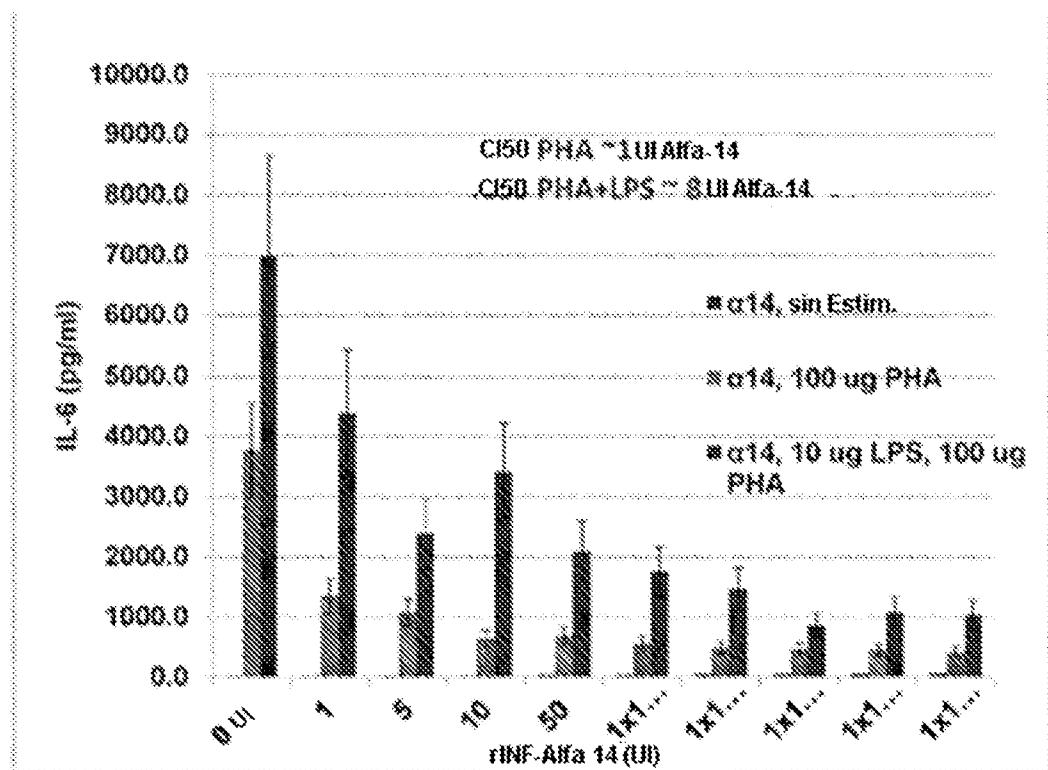


FIGURA 2. Inhibición de la producción de IL-6 por Interferón Alfa-14 Humano

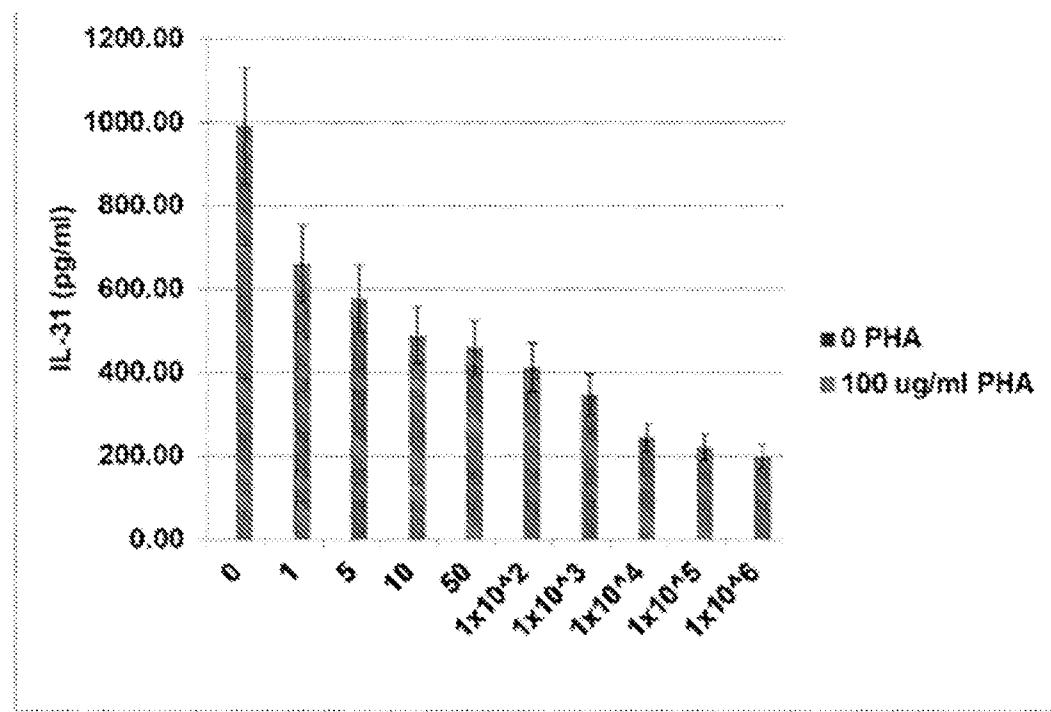


FIGURA 3 · Supresión de la Producción de IL-31 por Leucocitos Humanos mediante Interferón Alfa-14 Humano

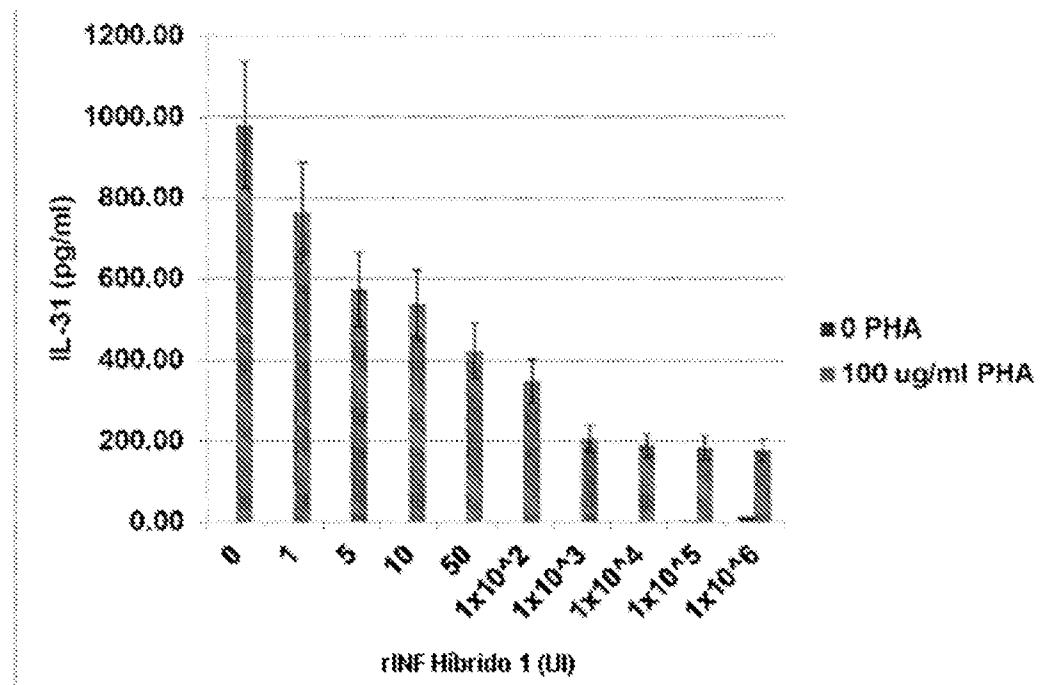


FIGURA 4 - Supresión de la Producción de IL-31 por Leucocitos Humanos mediante HÍBRIDO 1

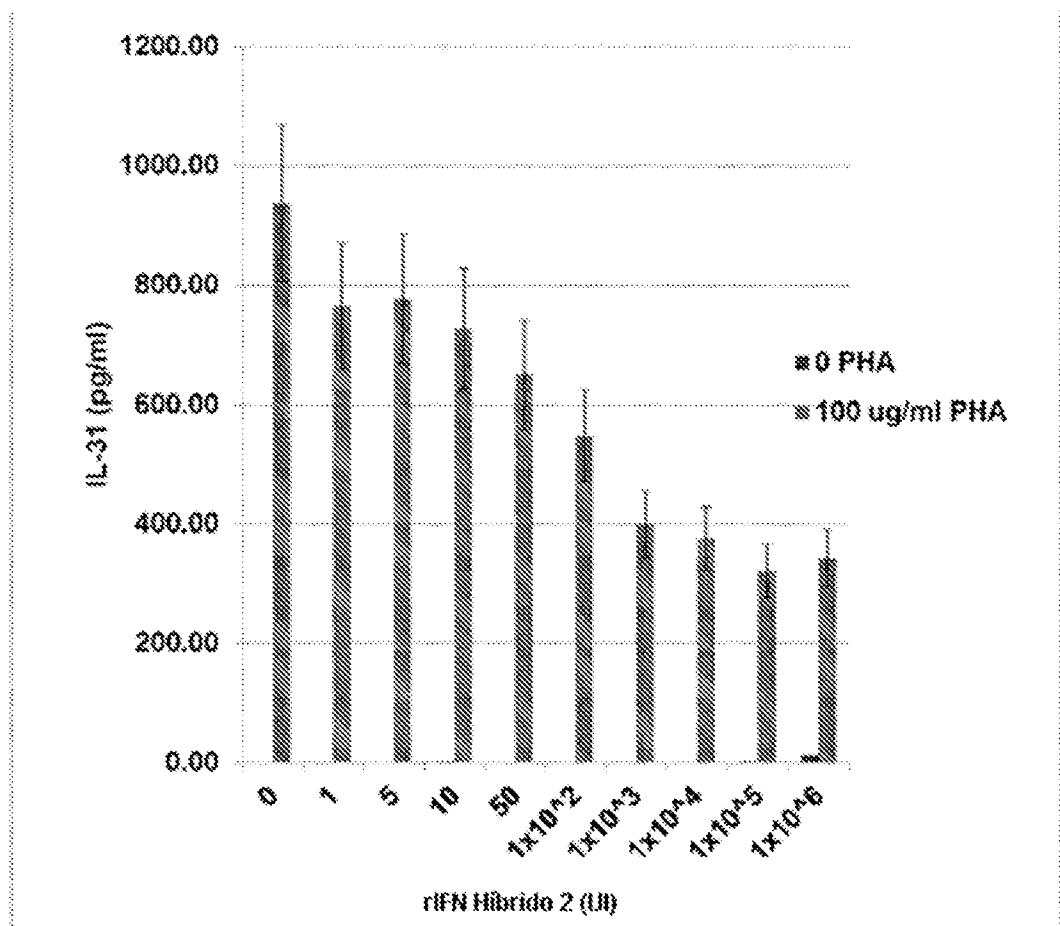


FIGURA 5 - Supresión de la Producción de IL-31 por Leucocitos Humanos mediante Híbrido 2

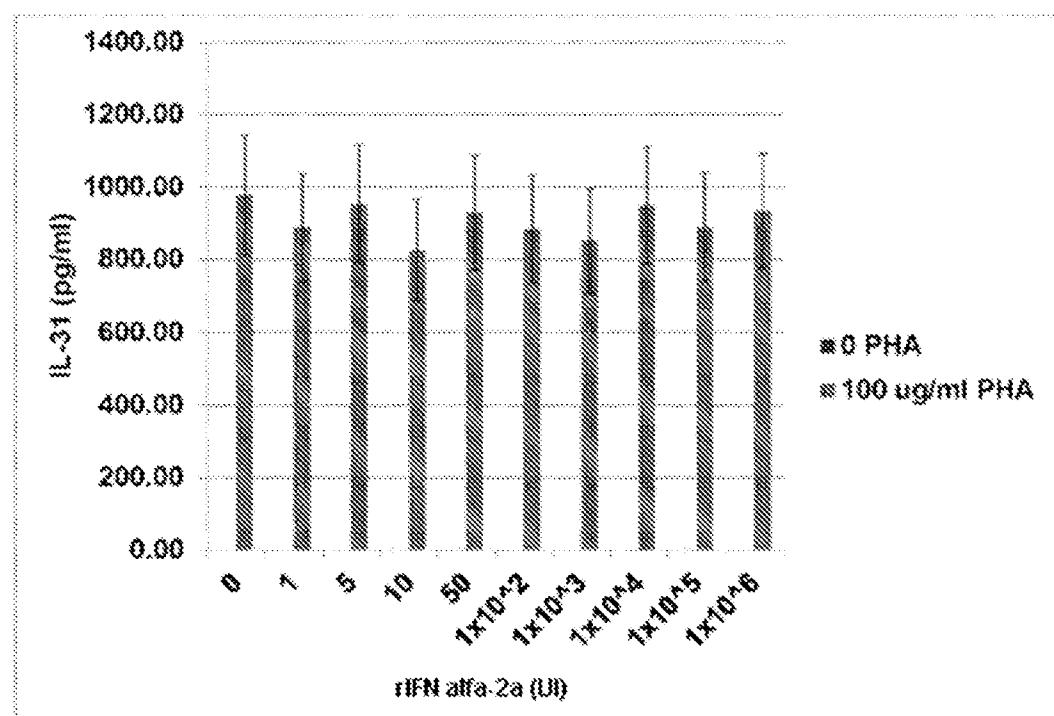


FIGURA 6 - Carencia de Supresión de Producción de IL-31 por Leucocitos Humanos mediante Interferón Alfa-2a Humano

CNLSQTHSLNNRRTLMLMA QMRRISPPSCLKDRHDPEFP
QEEFDGNQFQKAQAIISVLHE MMQQTFNLFSTKNSAAWDE
TLLERKFYIELFQQMNDLEAC VIQEVGVEETPLMNEDSILA
VKKYFQRITLYLMEKKYSPCAWEVVRRAEIMRSLSFSTNLQ KRLRRKD

FIGURA 7- SEQ ID NO:1 (IFN α -14)

CDLPQTHSLGNRRALILLGQMGRISPPSCLKDRHDPEFPQEEFDGNQFQKAQAIISVLHEM
MQQTTFNLFSTKNSAAWDEQTLLEKFYIELFQQMNDLEACVIQEVGVEETPLMNEDSILA
RKYFQRITLYLIERKYSPCAWEVVRRAEIMRSLSFSTNLQKRLRRKD

FIGURA 8- SEQ ID NO:2 (HÍBRIDO 1)

CDLPQTHSLGNRRALILLGQMGRISPPSCLKDRHDPEFPQEEFDGNQFQKAQAIISVLHEM
MQQTTFNLFSTKNSAAWDETLLERKFYIELFQQMNDLEACVIQEVGVEETPLMNEDSILA
KKYFQRITLYLIERKYSPCAWEVVRRAEIMRSLSFSTNLQKRLRRKD

FIGURA 9- SEQ ID NO:3 (HÍBRIDO 2)

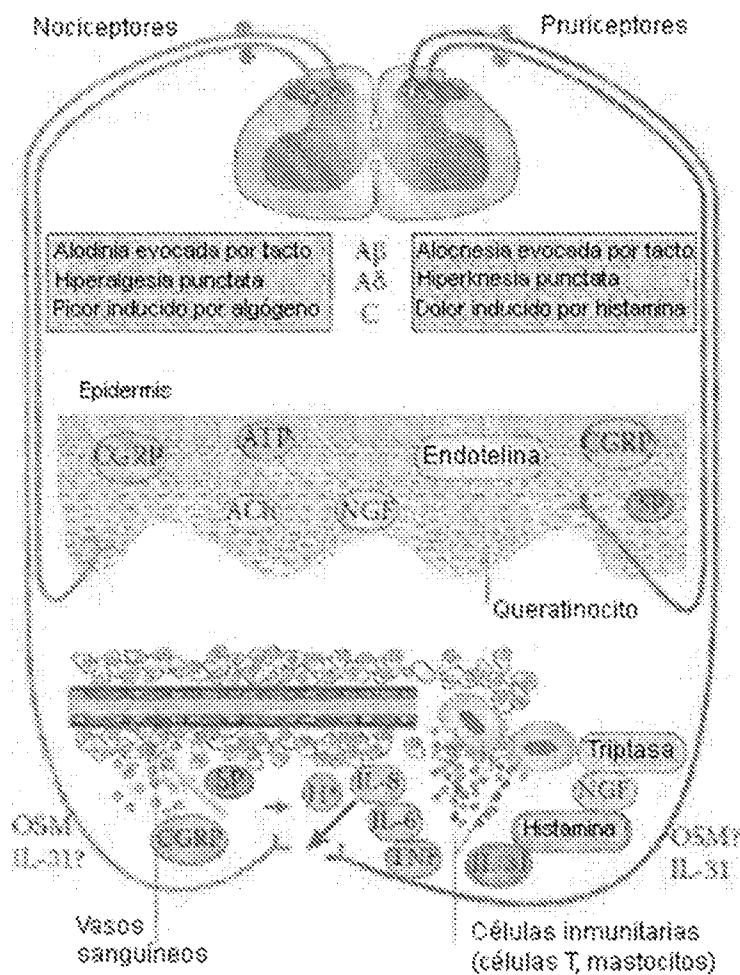


FIGURA 10 - La ruta prurítica