



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0911743-1 B1



(22) Data do Depósito: 24/07/2009

(45) Data de Concessão: 16/11/2021

(54) Título: USO DE UM PEPTÍDEO

(51) Int.Cl.: A61K 38/17; A61P 29/00.

(52) CPC: A61K 38/17; A61P 29/00.

(30) Prioridade Unionista: 24/07/2008 ES P200802210.

(73) Titular(es): BCN PEPTIDES, S.A..

(72) Inventor(es): CRISTINA CARRENO SERRAIMA; WIM VAN DEN NEST; ANTONIO FERRER MONTIEL; MARIA CAMPRUBI ROBES; JIMENA FERNANDEZ CARNEADO; BERTA PONSATI OBLIOLS.

(86) Pedido PCT: PCT EP2009005381 de 24/07/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/009892 de 28/01/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 24/01/2011

(57) Resumo: PEPTÍDEO Trata-se de composições para o tratamento de dor e/ou inflamação que compreendem pelo menos um peptídeo com a fórmula geral (I) (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, e seus sais cosmeticamente e farmacologicamente aceitáveis. Peptídeo com fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, e seus sais cosmeticamente e farmacologicamente aceitáveis para o tratamento de dor e/ou inflamação.

USO DE UM PEPTÍDEO

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção refere-se a uma composição para o tratamento de dor e/ou inflamação, preferencialmente para o tratamento de dor aguda, dor crônica, dor inflamatória, dor induzida por câncer ou por tratamento de câncer, dor visceral, dor neuropática, neuralgia pós-herpética, neuropatia diabética, neuralgia do trigêmeo, enxaqueca e fibromialgia. Esta composição contém uma quantidade eficaz de pelo menos um peptídeo que possui uma sequência derivada da sequência de aminoácidos da proteína SNAP-25, ou de seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] A dor representa um sério problema social e econômico. Calcula-se que mais de dois milhões de pessoas são incapacitadas diariamente por sofrer sensações dolorosas transitórias ou crônicas [Williams, M., Kowaluk, E.A. e Arneric S.P (1999) "Emerging Molecular approaches to pain therapy" J. Med. Chem. 42, 1481-1500]. Exemplos claros são a algesia experimentada por pacientes sofrendo de câncer, a enxaqueca, a artrite, queimaduras, acidentes e cirurgias. Dor que não é efetivamente tratada pode ser devastadora para pessoas, limitando suas capacidades, reduzindo sua mobilidade, causando distúrbios de sono e interferindo dramaticamente em sua qualidade de vida. Apesar da gravidade do problema, o arsenal farmacêutico para combater, prevenir e/ou minimizar seus sintomas e seu progresso é surpreendentemente limitado, em parte devido à falta de alvos terapêuticos específicos em que atuar, e desconhecimento das vias metabólicas que medeiam a

transdução da dor.

[003] A integridade do nosso corpo é assegurada pela operação apropriada, acoplada de dois sistemas altamente especializados: o sistema imune e o sistema nervoso. No caso de uma injúria tecidual causada por estímulos nocivos de uma natureza física ou química, ambos os sistemas trabalham em harmonia para causar sensibilização da área afetada, com o objetivo de interromper a extensão do dano e assegurar o rápido reparo da área danificada [Belmonte, C. and Cerveró, F. Eds (1996) "*Neurobiology of Nociceptors*" Oxford University Press]. Este processo é chamado de inflamação e pode ser de um de dois tipos, humoral se for principalmente mediado pelo sistema imune, ou neurogênico se for causado pelo sistema nervoso. De qualquer forma, um aspecto importante é que ambos os tipos de inflamação potencializam-se entre si, dessa forma intensificando a experiência de dor que acompanha o processo inflamatório.

[004] A sensação de dor começa quando os terminais periféricos de um grupo de neurônios sensoriais, conhecidos como neurônios nociceptores, ou nociceptores, são ativados por estímulos nocivos químicos, mecânicos ou térmicos. Os neurônios nociceptores transmitem a informação sobre o dano tecidual aos centros de processamento de sensação de dor na medula espinhal e no cérebro [Belmonte, C. and Cerveró, F. Eds (1996) "*Neurobiology of Nociceptors*" Oxford University Press; Baranauskas, G. and Nistri, A. (1998) "*Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms*" *Prog. Neurobiol.* 54, 349-365; Richardson, D.J. and Vasko, M.R. (2002) "*Cellular mechanisms of neurogenic inflammation*" *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 839-845]. Uma

característica importante de nociceptores é que embora sejam neurônios aferentes principalmente primários, uma vez ativados, são capazes de exercer uma função eferente liberando moléculas pró-algésicas e pró-inflamatórias como substância P (SP), o peptídeo relacionado à calcitonina (CGRP), histamina, ATP, glutamato e bradicinina (BK). Estas moléculas promovem ativação autócrina e parácrina de neurônios vizinhos bem como outros tipos celulares, tais como mastócitos, neutrófilos e plaquetas. Quando ativadas, as células não neuronais circundantes liberam neurotrofinas (NGF), citocinas (α -TNF, IL1- β , IL-6), prostaglandina, leucotrienos e prótons que fornecem à sopa inflamatória sua natureza acídica. Todos estes fatores, por sua vez, atuam sobre nociceptores que aumentam a inflamação local ou inflamação neurogênica, alterando a excitabilidade nociceptiva ou sensibilização periférica, e causando modificações na percepção de estímulos aplicados à área danificada, tais como hiperalgesia, definida como uma resposta exarcebada a um estímulo prejudicial, tal como temperaturas brandas de 35 a 40°C, ou alodinia, definida como o fenômeno no qual os estímulos que não são prejudiciais são percebidos como dolorosos, tais como uma brisa leve [Belmonte, C. and Cerveró, F. Eds (1996) "Neurobiology of Nociceptors" Oxford University Press; Baranauskas, G. and Nistri, A. (1998) "Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms" Prog. Neurobiol. 54, 349-365; Richardson, D.J. and Vasko, M.R. (2002) "Cellular mechanisms of neurogenic inflammation" J. Pharmacol. Exp. Ther. 302, 839-845; Brune, K. and Handwerker, H.O. Eds (2004) "Hyperalgesia: molecular mechanisms and clinical implications" Progress in Pain Research and Management, vol 30. IASP Press. Seattle].

Excitabilidade persistente de nociceptores periféricos causa modificações sinápticas no nível da medula espinhal que leva a um processo de sensibilização central, que por sua vez, ajuda a aumentar a percepção de dor na área inflamada [Richardson, D.J. and Vasko, M.R. (2002) "Cellular mechanisms of neurogenic inflammation" *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 839-845; Brune, K. and Handwerker, H.O. Eds (2004) "Hyperalgesia: molecular mechanisms and clinical implications" *Progress in Pain Research and Management*, vol 30. IASP Press. Seattle].

[005] As bases moleculares e celulares da inflamação neurogênica e sua regulação por mediadores de inflamação são amplamente desconhecidas, principalmente devido à falta de informação sobre a identidade molecular de muitos dos receptores envolvidos e a incerteza das vias sinalizadoras envolvidas em nociceptores. Entretanto, é conhecido que os mecanismos pelos quais os componentes da sopa inflamatória alteram a excitabilidade neuronal podem ocorrer diretamente pela interação com canais iônicos na superfície de nociceptores ou indiretamente por cascatas intracelulares [Richardson, D.J. and Vasko, M.R. (2002) "Cellular mechanisms of neurogenic inflammation" *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 839-845; Brune, K. and Handwerker, H.O. Eds (2004) "Hyperalgesia: molecular mechanisms and clinical implications" *Progress in Pain Research and Management*, vol 30. IASP Press. Seattle]. Dessa forma BK, NGF e interleucinas produzem suas ações pela ativação de vias metabólicas que ativam proteínas quinases PKC e PKA que podem alterar os receptores de membrana que transduzem estímulos ambientais e/ou modulam a expressão de genes neuronais (especialmente em processos inflamatórios crônicos). Os receptores alvo das vias sinalizadoras intracelulares

incluem canais ativados por voltagem seletivos ao íon Na^+ e o receptor de vaniloides TRPV1, um integrador sensorial de estímulos nocivos químicos e térmicos, bem como canais mecanossensitivos. A ativação destes receptores provoca potenciais de ação que estimulam a função aferente e eferente dos nociceptores, resultando em um aumento na sensibilização periférica e central. Por isso, toda esta observação demonstra um papel-chave da inflamação neurogênica ou neurológica em processos inflamatórios agudos e crônicos. Consequentemente, compostos que reduzam a magnitude da inflamação neurogênica apresentarão uma atividade anti-inflamatória e analgésica. Deste modo, por exemplo, antagonistas de receptor neuronais implicados, tais como TRPV1, canais de Na^+ , receptores de bradicinina ou receptores purinérgicos se comportarão como poderosos agentes anti-inflamatórios e/ou analgésicos. Evidências disso são os antagonistas do receptor TRPV1 [García-Martínez, C., Planells-casos, R., Fernández, A. M. Royo, M., Albericio, F., Messeguer, A., Pérez-Payá, E., Carreño, C. and Ferrer-Montiel, A. (2003) "Small molecules targeting the TRPV1 complex as new drugs for pain management" *Drugs of the Future* 28, 15-23].

[006] Apesar deste conhecimento, compostos anti-inflamatórios e/ou analgésicos atuais são limitados a fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (NSAIDs), tais como aspirina ou ibuprofeno e narcóticos, tais como morfina. NSAIDs têm efeitos colaterais que limitam sua utilização; por um lado, têm um teto de atividade acima do qual um aumento na dose não reduz a dor, por outro lado, também podem causar irritação no trato intestinal, e por isso seu uso prolongado pode levar ao desenvolvimento de uma úlcera gástrica. Isto é

realmente crítico em pacientes idosos, que frequentemente consomem NSAIDs diariamente para o tratamento de patologias artríticas crônicas. Infelizmente, opioides também têm efeitos colaterais não desejados, tais como constipação, depressão do sistema respiratório e efeitos psicoativos, tais como euforia, sedação e dependência. Estes efeitos colaterais ocorrem em doses similares às utilizadas no tratamento, para que as doses que podem ser administradas a pacientes sejam severamente limitadas, significando que seu uso muitas vezes é relegado ao tratamento de pacientes terminais.

[007] Há dessa forma uma necessidade significativa de aumentar o arsenal farmacológico existente para tratamento da dor.

[008] Entretanto, além da ação no nível de receptores neuronais, as bases moleculares da inflamação neurogênica também envolvem um alvo terapêutico adicional, tal como bloqueio ou inibição da liberação de substâncias neurais pró-inflamatórias (ou pró-algésicas) como CGRP, substância P, L-glutamato, ATP, histamina, etc., que são responsáveis por estimular os sistemas imune e nervoso. Substâncias neuronais pró-algésicas são liberadas através de um mecanismo de exocitose dependente de cátion Ca^{2+} e mediadas por proteínas SNARE [Bennett, M.K. and Scheller, R.H. (1993) "The molecular machinery for secretion is conserved from yeast to neurons" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 2559-2563; Sudhof, T.C. (1995) "The synaptic vesicle cycle: a cascade of protein-protein interactions" *Nature* 375, 645-653; Yang, Y., Xia, Z., and Liu, Y. (2000) "SNAP25 functional domains in SNARE core complex assembly and glutamate release of cerebellar granule cells" *J. Biol. Chem.* 275, 29482-29487; Brunger, A.T. (2001) "Structure

of proteins involved in synaptic vesicle fusion in neurons" *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 30, 157-171; Chen, Y.A. and Scheller, R.H. (2001) "SNARE-mediated membrane fusion" *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 98-106].

[009] É conhecido no estado da técnica que a injeção subcutânea de toxina botulínica A, um potente inibidor da exocitose neuronal, que destrói a proteína SNAP-25 [Bennett, M.K. and Scheller, R.H. (1993) "The molecular machinery for secretion is conserved from yeast to neurons" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 2559-2563; Sudhof, T.C. (1995) "The synaptic vesicle cycle: a cascade of protein-protein interactions" *Nature* 375, 645-653], reduz a dor produzida pela administração intraplantar do produto químico irritante formalina [Cui, M., Khanijou, S., Rubino, J. and Aoki, K.R. (2004) "Subcutaneous administration of botulinum toxin A reduces formalin-induced pain" *Pain* 107, 125-133]. O desenvolvimento de sorotipos diferentes de toxina botulínica para tratamento de vários tipos de dor é conhecido no estado-da-arte, como, por exemplo, e não limitado a estas, as aplicações terapêuticas descritas nas patentes US 7.381.700, US 7.374.769, US 7.361.358, US 7.294.339, US 7.255.866, US 7.211.262, US 7.172.763, US 7.091.176, US 7.067.137, US 6.887.476, US 6.869.610, US 6.838.434, US 6.776.992, US 6.641.820, US 6.623.742, US 6.565.870, US 6.500.436, US 6.464.986, US 6.458.365, US 6.423.319, US 6.372.226, US 6.333.037, US 6.235.289, US 6.113.915 e US 5.714.468 *inter alia*.

[010] Entretanto, a toxicidade inerente da toxina botulínica faz com que sua administração, em uma ampla faixa de doses, envolva efeitos colaterais não desejados, tais como respostas imunogênicas, dores de cabeça, náusea,

paralisia ou fraqueza muscular, falência respiratória e, nos casos mais extremos, a morte do indivíduo tratado [FDA News, 8 de fevereiro de 2008, "FDA Notifies Public of Adverse Reactions Linked to Botox Use"; Coté, T.R., Mohan, A.K., Pólder, J.A., Walton, M.K. and Braun, M.M. (2005) "Botulinum toxin Tipo A injections: Adverse events reported a the US Food and Drug Administration in therapeutic and cosmetic cases" J. Amer. Acad. Derm. 53 (3), 407-415]. Estes efeitos colaterais severos, em conjunto com o alto custo de tratamento, imitam severamente a aplicação de toxina botulínica para tratamento de dor e/ou inflamação, relegando-a a aplicações crônicas e/ou patologias para as quais não há nenhum tratamento próprio. Por isso, há uma necessidade de encontrar tratamentos alternativos mais seguros com compostos que imitem a ação da toxina botulínica mas não induzam reações imunes, tenham menos efeitos colaterais e cujo custo de produção seja mais barato.

[011] O requerente da presente invenção determinou que há compostos que podem mostrar a atividade anti-inflamatória e/ou analgésica por interferência na formação do complexo SNARE necessário para exocitose neuronal e resolver os problemas apresentados pelo tratamento com toxina botulínica. É conhecido no estado da técnica que determinados peptídeos derivados das sequências de proteínas que formam o complexo SNARE podem inibir exocitose neuronal, tal como, por exemplo, peptídeos derivados dos domínios amino e carboxila da proteína SNAP-25 [Apland, J.P., Biser, J.A., Adler, M., Ferrer-Montiel, A.V., Montal, M., Canaves, J.M., and Filbert, M.G. (1999) "Peptides that mimic the carboxy-terminal domain of SNAP-25 block acetylcholine release at an aplysia synapse" J. Appl. Toxicol. 19, Suppl.1: S23-S26; Mehta, P.P., Batternger,

E., and Wilson, M. (1996) "SNAP-25 and synaptotagmin involvement in the final Ca^{2+} -dependent triggering of neurotransmitter exocytosis" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 10471-10476; Ferrer-Montiel, A.V., Gutierrez, L.M., Apland, J.P., Canaves, J.M., Gil, A., Viniegra, S., Biser, J.A., Adler, M., and Montal, M. (1998) "The 26-mer peptide released from cleavage by botulinum neurotoxin E inhibits vesicle docking" *FEBS Lett.* 435, 84-88; Gutierrez, L.M., Canaves, J.M., Ferrer-Montiel, A.V., Reig, J.A., Montal, M. and Viniegra, S. (1995) "A peptide that mimics the carboxy-terminal domain of SNAP-25 blocks Ca^{2+} -dependent exocytosis in chromaffin cells" *FEBS Lett.* 372, 39-43; Gutierrez, L.M., Viniegra, S., Rueda, J., Ferrer-Montiel, A.V., Canaves, J.M., and Montal, M. (1997) "A peptide that mimics the C-terminal Sequência of SNAP-25 inhibits secretory vesicle docking in chromaffin cells" *J. Biol. Chem.* 272, 2634-2639; Blanes-Mira, C, Valera, E., Fernández-Ballester, G., Merino, J.M., Viniegra, S., Gutierrez, L.M., Perez-Payá, E., and Ferrer-Montiel, A. (2004) "Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP-25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis" *J. Neurochem.* 88, 124-135], peptídeos derivados de sequências de aminoácidos de syntaxina [Martin, F., Salinas, E., Vazquez, J., Soria, B., and Reig, J.A. (1996) "Inhibition of insulin release by synthetic peptides show that the H3 region at the C-terminal domain of syntaxin-1 is crucial for Ca^{2+} -but not for guanosine 5'-[gamma-thio]triphosphate-induced secretion" *Biochem. J.* 320, 201-205], de sinaptobrevina [Cornille, F., Deloye, F., Fournie-Zaluski, M.C., Roques, B.P. and Poulain, B. (1995) "Inhibition of neurotransmitter release by synthetic proline-rich peptides shows that the N-terminal domain of

vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin is critical for neuro-exocytosis" *J. Biol. Chem.* 270, 16826-16830], de sinaptotagmina [Mehta, P.P., Battenrger, E., and Wilson, M. (1996) "SNAP-25 and synaptotagmin involvement in the final Ca^{2+} -dependent triggering of neurotransmitter exocytosis" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 10471-104] and of the proteína Snapin [Ilardi, J.M., Mochida, S., and Sheng, Z.H. (1999) "Snapin: A SNARE associated protein implicated in synaptic transmission" *Nat. Neurosci.* 2, 119-124]. Similarmente, peptídeos sintéticos foram obtidos por desenho racional ou por varredura de bibliotecas químicas sintéticas, as quais podem interferir na formação do complexo SNARE pela inibição de exocitose neuronal [Blanes-Mira, C., Pastor, M.T., Valera, E., Fernández-Ballester, G., Merino, J.M., Gutierrez, L.M., Perez-Paya, E., and Ferrer-Montiel, A. (2003) "Identification of SNARE complex modulators that inhibit exocytosis form an α -helix-constrained combinatorial library" *Biochem J.* 375, 159-166].

[012] A aplicação industrial deste tipo de compostos era limitada. A indústria cosmética tem feito esforços significantes para desenvolver compostos que mimetizam a ação de toxinas botulínicas para uso exclusivo no tratamento e prevenção da formação de rugas de expressão [Blanes-Mira, C., Clemente, J., Jodas, G., Gil, A., Fernández-Ballester, G., Ponsati, B., Gutierrez, L.M., Pérez-Payá, E. e Ferrer-Montiel, A. (2002) "A synthetic hexapeptide (Argireline®) with anti-wrinkle activity" *Int. J. Cosmet. Sci.* 24, 303-310]. Especificamente, os pedidos de patente EP1180524 A1 e WO2008/049945 da Lipotec, S.A. descrevem peptídeos derivados do fragmento amino-terminal da proteína SNAP-25,

livre ou modificada em suas extremidades amino e/ou carbóxi terminais que possuem o efeito antirrugas, e o pedido de patente internacional WO97/34620 também descreve peptídeos derivados da sequência de aminoácidos da proteína SNAP-25, em particular seu carbóxi terminal, ou de sinaptobrevina ou syntaxina capazes de inibir exocitose neuronal.

[013] Nenhuma das patentes descritas acima se refere ao uso de peptídeos derivados da proteína SNAP-25 como um agente analgésico e/ou anti-inflamatório, nem, em particular, ao uso de peptídeos derivados da proteína SNAP-25 para o tratamento de dor e/ou inflamação.

[014] A presente invenção apresenta uma solução para necessidades existentes, que compreendem a demonstração que peptídeos derivados da proteína SNAP-25, que quais bloqueia a exocitose neuronal, são anti-inflamatórios e/ou analgésicos.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[015] A presente invenção apresenta uma solução simples, eficaz e sem risco para o tratamento de dor e/ou inflamação, que compreende a aplicação de uma composição que contém pelo menos um peptídeo que possui uma sequência de 3 a 40 aminoácidos adjacentes contidos na sequência de aminoácidos da proteína SNAP-25, definida por SEQ ID No. 1.

[016] Consequentemente, um primeiro aspecto da presente invenção refere-se a uma composição para o tratamento de dor e/ou inflamação, que compreende uma quantidade eficaz de pelo menos um peptídeo de acordo com fórmula geral (I):



(I)

seus estereoisômeros e misturas dos mesmos, racêmicas ou não, e seus sais cosmeticamente ou

farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, em que

AA é uma sequência de 3 a 40 aminoácidos adjacentes contida na sequência de aminoácidos da SEQ ID No. 1;

R₁ é selecionado a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído, alicicliclila substituída ou não substituída, heterocicliclila substituída ou não substituída, heteroarilalquila substituída ou não substituída, arila substituída ou não substituída, aralquila substituída ou não substituída e R₅-C(O)-; e

R₂ é selecionado a partir do grupo que consiste em -NR₃R₄, -OR₃ e -SR₃; onde R₃ e R₄ são selecionados independentemente a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído, alicicliclila substituída ou não substituída, heterocicliclila substituída ou não substituída, heteroarilalquila substituída ou não substituída, arila substituída ou não substituída e aralquila substituída ou não substituída;

em que R₅ é selecionado a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído, alicicliclila substituída ou não substituída, arila substituída ou não substituída, aralquila substituída ou não substituída, heterocíclico substituído ou não substituído e heteroarilalquila substituída ou não substituída.

[017] Em uma modalidade particular, a composição para o tratamento de dor e/ou inflamação é uma composição cosmética ou farmacêutica.

[018] Em outra modalidade particular, AA é uma sequência de 3 a 30 aminoácidos adjacentes contida na sequência de aminoácidos da SEQ ID No. 1.

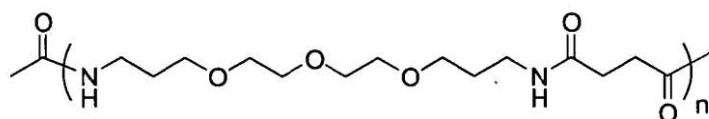
[019] Em outra modalidade particular, as

estruturas preferenciais dos peptídeos representados na fórmula geral (I) são aquelas onde

R_1 é H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído de C_2 a C_{24} , grupo aliciclila substituído ou não substituído de C_2 a C_{24} , ou $R_5-C(O)-$ em que R_5 é um grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído de C_1 a C_{24} , ou grupo aliciclila substituído ou não substituído de C_1 a C_{24} ; e

R_2 é $-NR_3R_4$ ou $-OR_3$, em que R_3 e R_4 são selecionados independentemente a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído de C_1 a C_{24} e grupo aliciclila substituído ou não substituído de C_1 a C_{24} .

[020] Em outra modalidade particular, as estruturas mais preferenciais são aquelas nas quais R_1 é um polímero de polietilenoglicol. Estruturas ainda mais preferenciais são aquelas nas quais o polímero de polietilenoglicol é



em que n pode variar de 1 a 100, e ainda mais preferencialmente pode variar entre 1 e 5.

[021] Em outra modalidade particular, estruturas preferenciais são aquelas em que R_1 é H, acetila, ter-butanoíla, hexanoíla, 2-metil-hexanoíla, ciclohexanocarboxila, octanoíla, decanoíla, lauroíla, miristoíla, palmitoíla, estearoíla, oleoíla e linoleoíla.

[022] Em outra modalidade particular, estruturas preferenciais são aquelas em que R_3 e R_4 são selecionadas

independentemente a partir do grupo que consiste em H, metila, etila, hexila, dodecila e hexadecila.

[023] Peptídeos compreendidos na composição da presente invenção podem existir como estereoisômeros ou misturas de estereoisômeros; por exemplo, os aminoácidos que os compõem podem ter configuração L-, D- ou serem racêmicos independentemente entre si. Por isso, é possível obter misturas isoméricas bem como racematos ou misturas diastereoméricas ou diastereômeros ou enantiômetros puros, dependendo do número de carbonos assimétricos e quais isômeros ou misturas isoméricas estão presentes. As estruturas preferenciais dos peptídeos compreendidos na composição da invenção são isômeros puros, isto é, enantiômetros ou diastereômeros.

[024] Dentro do contexto da presente invenção, o termo "grupo alifático não cíclico" é utilizado na presente invenção para englobar, por exemplo, e não limitado a este, grupos alquila, alquenila e alquinila, lineares ou ramificados.

[025] O termo "grupo alquila" refere-se na presente invenção a um grupo saturado linear ou ramificado, contendo 1 a 24, preferencialmente 1 a 16, até mais preferencialmente 1 a 14, ainda mais preferencialmente 1 a 12, ainda mais preferencialmente 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono, e que está ligado ao resto da molécula por uma ligação simples, incluindo, por exemplo, e não limitado a estes, metila, etila, isopropila, isobutila, ter-butila, heptila, octila, decila, dodecila, laurila, hexadecila, octadecila, amila, 2-etil-hexila, 2-metilbutila, 5-metil-hexila e similares.

[026] O termo "grupo alquenila" refere-se na

presente invenção a um grupo que tem entre 2 e 24, preferencialmente entre 2 e 16, até mais preferencialmente entre 2 e 14, ainda mais preferencialmente entre 2 e 12, ainda mais preferencialmente 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono com uma ou mais ligações duplas carbono-carbono, preferencialmente com 1, 2 ou 3 ligações duplas carbono-carbono, conjugadas ou não conjugadas, que está ligado ao resto da molécula por uma ligação simples, incluindo por exemplo, e não limitado a isso, grupo vinila, oleíla, linoleíla e similares.

[027] O termo "grupo alquinila" refere-se na presente invenção a um grupo que tem entre 2 e 24, preferencialmente entre 2 e 16, até mais preferencialmente entre 2 e 14, ainda mais preferencialmente entre 2 e 12, ainda mais preferencialmente 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono com uma ou mais ligações triplas de carbono-carbono, preferencialmente 1, 2 ou 3 ligações triplas de carbono-carbono, conjugadas ou não conjugadas, que está ligado ao resto da molécula por uma ligação simples, incluindo, por exemplo, e não limitado a estes, o grupo etinila, 1-propinila, 2-propinila, 1-butinila, 2-butinila, 3-butinila, pentinila, por exemplo, 1-pentinila e similares.

[028] O termo "grupo aliciclila" é utilizado na presente invenção para englobar, por exemplo, e não limitado a isso, grupos cicloalquila ou cicloalquenila ou cicloalquinila.

[029] O termo "cicloalquila" refere-se na presente invenção a um grupo alifático saturado mono- ou policíclico que tem entre 3 e 24, preferencialmente entre 3 e 16, até mais preferencialmente entre 3 e 14, ainda mais preferencialmente entre 3 e 12, e ainda mais preferencialmente

3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono e que está ligado ao resto da molécula por uma ligação simples, incluindo, por exemplo, e não limitado a estes, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclohexila, cicloheptila, metil ciclohexila, dimetil ciclohexila, octahidroindeno, decahidronaftaleno, dodecahidro fenaleno e similares.

[030] O termo "cicloalquenila" refere-se na presente invenção a um grupo alifático não aromático mono- ou policíclico que tem entre 5 e 24, preferencialmente entre 5 e 16, até mais preferencialmente entre 5 e 14, ainda mais preferencialmente entre 5 e 12, e ainda mais preferencialmente 5 ou 6 átomos de carbono com uma ou mais ligações duplas carbono-carbono, preferencialmente 1, 2 ou 3 ligações duplas carbono-carbono, conjugadas ou não conjugadas, e que está ligado ao resto da molécula por uma ligação simples, incluindo por exemplo, e não limitado a isso, o grupo ciclopent-1-en-1-ila e similares.

[031] O termo "cicloalquinila" refere-se na presente invenção a um grupo alifático não aromático mono- ou policíclico que tem entre 5 e 24, preferencialmente entre 5 e 16, até mais preferencialmente entre 5 e 14, ainda mais preferencialmente entre 5 e 12, e ainda mais preferencialmente 5 ou 6 átomos de carbono com uma ou mais ligações duplas carbono-carbono, preferencialmente 1, 2 ou 3 ligações triplas carbono-carbono, conjugadas ou não conjugadas, e que está ligado ao resto da molécula por uma ligação simples, incluindo por exemplo, e não limitado a isso, o grupo ciclohex-1-in-1-ila e similares.

[032] O termo "grupo arila" refere-se na presente invenção a um grupo aromático que tem entre 6 a 30,

preferencialmente entre 6 e 18, até mais preferencialmente entre 6 e 10, e ainda mais preferencialmente 6 ou 10 átomos de carbono, compostos de 1, 2, 3 ou 4 anéis aromáticos ligados por uma ligação carbono-carbono ou fusionado, incluindo, por exemplo, e não limitado a estes, fenila, naftila, difenila, indenila, fenantrila ou antranila *inter alia*, ou um grupo aralquila.

[033] O termo "grupo aralquila" refere-se na presente invenção a um grupo alquila substituído por um grupo aromático, que tem entre 7 e 24 átomos de carbono e incluindo, por exemplo, e não limitado a estes, $-(CH_2)_{1-6}$ -fenila, $-(CH_2)_{1-6}$ -(1-naftil), $-(CH_2)_{1-6}$ -(2-naftil), $-(CH_2)_{1-6}$ -CH(fenil)₂ e similares.

[034] O termo "grupo heterociclila" refere-se na presente invenção a um anel de hidrocarboneto com 3 a 10 membros nos quais um ou mais dos átomos anelares, preferencialmente 1, 2 ou 3 átomos anelares são um elemento diferente de carbono tal como por exemplo, nitrogênio, oxigênio ou enxofre e que pode ser saturado ou não saturado. Para os fins da presente invenção, o heterociclo pode ser um sistema cíclico, monocíclico, bicíclico ou tricíclico, que pode incluir sistemas anelares fusionados, e átomos de nitrogênio, carbono ou enxofre podem ser opcionalmente oxidados no radical heterociclila; o átomo de nitrogênio pode ser opcionalmente quaternizado e o radical heterocíclico pode ser parcialmente ou completamente saturado ou ser aromático. Mais preferencialmente, o termo heterocíclico refere-se a um anel com 5 ou 6 membros.

[035] O termo "grupo heteroarilalquila" refere-se na presente invenção a um grupo alquila substituído por um

grupo heterociclila aromático substituído ou não substituído, o grupo alquila contendo 1 a 3 átomos de carbono e o grupo heterociclila aromático entre 2 e 24 átomos de carbono e de 1 a 3 átomos além de carbono, incluindo, por exemplo, e não limitado a estes, $-(CH_2)_{1-6}$ -imidazolila, $-(CH_2)_{1-6}$ -triazolila, $-(CH_2)_{1-6}$ -tienila, $-(CH_2)_{1-6}$ -furila, $-(CH_2)_{1-6}$ -pirrolidinila e similares.

[036] Como é entendido nesta área técnica, pode haver certo grau de substituição dos radicais definidos acima. Dessa forma, pode haver uma substituição em algum dos grupos da presente invenção. Referências neste documento a grupos substituídos nos grupos da presente invenção indicam que o radical especificado pode ser substituído em uma ou mais posições disponíveis por um ou mais substituintes, preferencialmente em 1, 2 ou 3 posições, mais preferencialmente em 1 ou 2 posições, e até mais preferencialmente em 1 posição. Tais substituintes incluem, por exemplo, e não são limitados a estes, alquila C_1-C_4 ; hidroxila; alcóxila C_1-C_4 ; amino; aminoalquila C_1-C_4 ; carboniloxila C_1-C_4 ; oxicarbonila C_1-C_4 ; halogêneo, tal como flúor, cloro, bromo e iodo, ciano, nitro; azido; C_1-C_4 alquilsulfonila; tiol; alquiltio C_1-C_4 ; ariloxila, tal como fenoxila, $-NR_b$ ($C=NR_b$) NR_bR_c ; em que R_b e R_c são independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em H, alquila de C_1-C_4 , alquenila C_2-C_4 , alquinila C_2-C_4 , cicloalquila C_3-C_{10} , arila C_6-C_{18} , C_7-C_{17} aralquila, heterocíclico com 3 a 10 membros ou grupo protetor amino.

[037] No contexto da presente invenção "sequência de aminoácidos derivada da sequência de aminoácidos da proteína SNAP-25" significa qualquer sequência de aminoácidos ou fragmentos da sequência de aminoácidos da

proteína SNAP-25, definida pela SEQ ID No. 1, ou qualquer sequência de aminoácidos que se diferencie da sequência SEQ ID No. 1 por mutação, inserção, deleção ou substituição de pelo menos um aminoácido, ou pela degeneração do código genético, contanto que corresponda a um peptídeo que possua a atividade da proteína SNAP-25. Mutações, inserções ou substituições podem realizar-se por aminoácidos geneticamente codificados ou aminoácidos não codificados, naturais ou não, por exemplo, e não limitadas a estes, citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, 4-clorofenilalanina, ácido 2,3-diaminopropiônico, ácido 2,4-diaminobutírico, ciclosserina, carnitina, cistina, penicilamina, ácido piroglutâmico, tienilalanina, hidroxiprolina, *alo*-isoleucina, *alo*-treonina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina, beta-alanina, norleucina, N-metilaminoácidos, beta- ou gama-aminoácidos *inter alia* e seus derivados. Uma lista de aminoácidos não naturais pode ser encontrada no artigo "Unusual amino acids in peptide synthesis" por Roberts D.C e Vellaccio F., em "The Peptides", Vol 5 (1983), Chapter VI, Gross, E. e Meienhofer, J., Eds. Academic Press, New York, USA ou nos catálogos comerciais de companhias especializadas no setor, tais como NeoMPS, Bachem, Novabiochem, Sigma-Aldrich, Peptides International, Advanced ChemTech, Chem-Impex, Maybridge Chemical, Chirotech Technology, Peninsula Laboratories ou RSP Amino Acid Analogues, *inter alia*.

[038] Entre os peptídeos derivados da sequência de aminoácidos de SNAP-25 definidos pela SEQ ID No. 1 incluídos

nas composições da invenção, sequências preferenciais são aquelas que possuem uma sequência de aminoácidos adjacentes contida na sequência da região amino-terminal da proteína SNAP-25 definida pela SEQ ID No. 2 ou a região carbóxi-terminal da proteína SNAP-25 definida pela SEQ ID No. 3, mais preferencialmente na região entre os resíduos 10 a 22, definida pela SEQ ID No. 4, ou contida na região entre os resíduos 25 a 40, definida pela SEQ ID No. 5, ou contida na região entre os resíduos 65 a 81, definida pela SEQ ID No. 6, ou contida na região entre os resíduos 181 a 206, definida pela SEQ ID No. 7, mais precisamente contida na região entre os resíduos 12 a 19, definida pela SEQ ID No. 8, ou contida na região entre os resíduos 26 a 38, definida pela SEQ ID No. 9 ou contida na região entre os resíduos 68 a 79, definida pela SEQ ID No. 10, e especificamente contida na região entre os resíduos 12 a 17, definida pela SEQ ID No. 11.

[039] Em particular, sequências de aminoácidos preferenciais são preferencialmente aquelas que têm uma sequência de aminoácidos adjacentes contida em qualquer uma das sequências selecionadas a partir do grupo que consiste em SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 6, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 8, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 10, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 12, 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, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 22, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 24, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 26, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 28, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 30, SEQ ID No. 31 e SEQ ID No. 32.

[040] Além disso, a invenção também inclui composições que compreendem peptídeos substancialmente

homólogos aos peptídeos derivados da sequência de aminoácidos da proteína SNAP-25, modificados quimicamente irreversivelmente. "Peptídeos substancialmente homólogos" significam na presente invenção aquelas sequências de aminoácidos que são pelo menos 60%, preferencialmente 80% e mais preferencialmente 95% idênticas a qualquer uma das sequências precedentes. A "porcentagem de identidade" refere-se à porcentagem de aminoácidos que são idênticos entre duas sequências de aminoácidos comparadas, após um alinhamento ótimo destas sequências, onde esta porcentagem é puramente estatística e as diferenças entre as duas sequências de aminoácidos são randomicamente distribuídas ao longo da sequência. O termo "alinhamento ótimo" significa o alinhamento das sequências de aminoácidos resultando em uma porcentagem mais alta de identidade. A porcentagem da identidade é calculada determinando o número de posições idênticas onde um aminoácido é idêntico nas duas sequências comparadas, dividindo o número de posições idênticas pelo número de posições comparadas e multiplicando o resultado por 100 para obtenção da porcentagem de identidade entre as duas sequências. Comparações de sequência entre duas sequências de aminoácidos podem ser realizadas manualmente ou por programas, tais como o algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), disponível online no sítio <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.

[041] Dentro do âmbito da presente invenção também estão incluídos os sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis dos peptídeos das composições da invenção. O termo "sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis" na presente invenção significa que um sal geralmente reconhecido para uso em animais e mais

particularmente em humanos, incluindo os sais utilizados para formar sais de adição básica, inorgânicos, tais como, por exemplo, e sem limitação a estes, lítio, sódio, potássio, cálcio, magnésio ou alumínio, *inter alia*, ou orgânicos tais como, por exemplo, e não limitados a isso, etilamina, dietilamina, etilenediamina, etanolamina, dietanolamina, arginina, lisina, histidina ou piperazina *inter alia*, ou sais de adição ácida, orgânicos, tais como por exemplo e sem limitação a estes, acetato, citrato, lactato, malonato, maleato, tartarato, fumarato, benzoato, aspartato, glutamato, succinato, oleato, trifluoroacetato, oxalato, pamoato ou gluconato, *inter alia*, ou inorgânicos, tais como por exemplo, e não são limitados a estes, cloreto, sulfato, borato ou carbonato *inter alia*. A natureza do sal não é crítica, contanto que seja cosmeticamente ou farmacologicamente aceitável. Os sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis dos peptídeos das composições da invenção podem ser obtidos por métodos convencionais, bem conhecidos no estado da técnica [Berge, S.M., Bighley, L.D., and Monkhouse, D.C. (1977) "Pharmaceutical Salts" *J. Pharm. Sci* 66:1-19].

[042] Adicionalmente, os peptídeos da invenção podem sofrer modificações químicas reversíveis para aumentar sua biodisponibilidade e facilitar a travessia pela barreira hematoencefálica ou tecido epitelial.

[043] Os peptídeos compreendidos nas composições da invenção podem ser administrados por qualquer meio que produza o contato dos peptídeos com seu sítio de ação no corpo de um mamífero, preferencialmente seres humanos. Estas composições podem ser preparadas por métodos convencionais conhecidos por versados na técnica ["Harry's Cosmeticology",

Eight [sic] edition (2000) Rieger M.M., ed., New York Chemical Pub., NY, US; "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Twentieth edition (2003) Genaro A.R., ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, US].

[044] Os peptídeos compreendidos nas composições da presente invenção têm solubilidade variável em água, dependendo da natureza de suas sequências ou as modificações possíveis no terminal amino e/ou carbóxi que eles têm. Por isso, os peptídeos da presente invenção podem ser incorporados em composições por meio de uma solução aquosa, e aqueles que não são solúveis em água podem ser solubilizados em solventes convencionais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis tais como, por exemplo, e não são limitados a estes, etanol, propanol, isopropanol, propilenoglicol, glicerina, butilenoglicol ou polietilenoglicol, ou qualquer combinação dos mesmos.

[045] A quantidade eficaz de peptídeos compreendida nas composições da invenção, seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis, que devem ser administrados para tratamento de dor e/ou inflamação, bem como sua dosagem, dependerão de diversos fatores incluindo idade, condição do paciente, a causa da dor e/ou inflamação, a severidade da dor e/ou inflamação, a via e frequência de administração e a natureza particular dos peptídeos utilizados.

[046] "Quantidade eficaz" significa uma quantidade não tóxica mas suficiente de pelo menos um peptídeo para fornecer o efeito desejado. Os peptídeos são utilizados na composição da presente invenção em concentrações eficazes

para alcançar o efeito desejado; preferencialmente, em referência ao peso total da composição, entre 0,00000001% (em peso) e 20% (em peso), preferencialmente entre 0,000001% (em peso) e 20% (em peso), mais preferencialmente entre 0,0001% (em peso) e 10% (em peso) e mais especificamente entre 0,0001% (em peso) e 5% (em peso).

[047] Em outra modalidade particular, os peptídeos compreendidos nas composições da invenção também podem ser incorporados em sistemas de aplicação e/ou sistemas de liberação sustentada.

[048] O termo "sistemas de aplicação" refere-se a um diluente, adjuvante, excipiente ou veículo com o qual o derivado de peptídeo da invenção é administrado. Estes veículos podem ser líquidos, tais como água, óleos e tensoativos, incluindo aqueles de origem de petróleo, animal, vegetal ou sintética, tais como, por exemplo, e não são limitados a estes, óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral, óleo de sésamo, óleo de rícino, polissorbatos, ésteres de sorbitano, éter sulfatos, sulfatos, betainas, glicosídeos, maltosídeos, álcoois graxos, nonoxinol, poloxâmero, polioxietilenos, polietilenoglicóis, dextrose, glicerol e similares. "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin descreve diluentes, adjuvantes ou excipientes como veículos apropriados.

[049] O termo "liberação sustentada" é utilizado no sentido convencional, referindo-se a um sistema de aplicação de um composto que forneça liberação gradual do dito composto por um período de tempo e preferencialmente, embora não necessariamente, com níveis constantes de liberação do composto por um período de tempo.

[050] Exemplos de sistemas de aplicação ou liberação sustentada incluem lipossomas, milipartículas, micropartículas, nanopartículas, esponjas, vesículas, micelas, miliesferas, microesferas e nanoesferas, lipoesferas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, microemulsões e nanoemulsões, que podem ser adicionadas para alcançar maior penetração do ingrediente ativo e/ou melhorar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas.

[051] Em outra modalidade particular, as formulações de liberação sustentada podem ser preparadas por métodos conhecidos no estado da técnica, e composições que os contêm podem ser administradas, por exemplo, pela administração tópica, incluindo adesivos ou materiais materiais não adesivos, ou pela administração sistêmica, tal como, por exemplo, e não são limitadas a estas, pela via entérica ou parenteral e preferencialmente devem liberar uma quantidade relativamente constante dos peptídeos compreendidos nas composições da invenção. A quantidade do peptídeo contido na formulação de liberação sustentada dependerá, por exemplo, do sítio de administração, da cinética e duração da liberação do peptídeo das composições da invenção, bem como a causa e severidade da dor e/ou inflamação, via, frequência de administração e a natureza particular dos peptídeos a serem utilizados.

[052] No contexto da presente invenção, os termos "entéricos ou parenterais" incluem vias orais, nasais, por inalação, retais, adesivos ou materiais não adesivos, injeções subcutâneas, intradérmicas, intravasculares, tais como intravenosas, intramusculares, intra-arteriais, intravitreais, espinhais, intracranianas, intra-articulares,

intratecais e intraperitoniais, bem como qualquer técnica de injeção ou infusão similar.

[053] Em outra modalidade particular, a composição da invenção adicionalmente inclui veículos e/ou agentes auxiliares aceitáveis necessários para a administração da composição de maneira desejada. Entre veículos e/ou agentes auxiliares estão incluídos excipientes, espessantes, diluentes, solventes, dispersantes, agentes para melhorar o congelamento a vácuo ou adjuvantes adequados para cada via de administração e que são conhecidos pelo técnico no assunto. Espessantes incluem, mas não são limitados a, polímeros solúveis em água, tais como aqueles selecionados a partir do grupo que consiste em celulosas modificadas, metilcelulose, etilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxietilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose e carboximetilcelulose, dextranas, gelatina, colágeno, ácido hialurônico, polietilenoglicol ou polivinil pirrolidona. Diluentes e solventes incluem, mas não são limitados aos selecionados a partir do grupo que consiste em etanol, polietilenoglicol, glicofurol, *N*-metil-2-pirrolidona, glicerol, propanodiol, polipropilenoglicol, álcool benzílico ou sulfóxido de dimetila. Os dispersantes incluem, mas não são limitados a, tensoativos selecionados a partir do grupo que consiste em monoésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitano (Tween®, Emalex, Nikkol®, Hodag, Dacol ou Liposorb®), monoésteres de ácido graxo do sorbitano (Span®), 15-hidroxiestearato de polietilenoglicol (Solutol® HS15), ésteres de ácido graxo de polietilenoglicol (Crodet, Cithrol, Kessco®, Nikkol®, Mapeg®, Myrj, Tagat®, Aldo®, Capmul®, Glycerox, Lactomul® ou Emerest®), ésteres de polioxietilenoglicol

(Emulphor®), óleos de rícino polietoxilados (Cremophor®, Emalex, Eumulgin®, Nikkol® ou Simusol®), ésteres de ácido graxo de poliglicerol (Nikkol Decaglyn, Polymuls, Caprol®), éteres de polietilenoglicol (Volpo ou Brij®), poloxâmeros (Lutrol® ou Pluronic®), éteres de fenil polioxietileno (Triton® ou Igepal®), ou misturas dos mesmos. Agentes para melhorar o congelamento a vácuo incluem, mas não são limitados a, açúcares, tais como aqueles selecionados a partir do grupo que consiste em manitol, sacarose, glicose, frutose, lactose, trehalose, sacarose, dextrose, sorbitol e glicina, gelatina, polivinil pirrolidona, ou misturas dos mesmos. Preferencialmente, a composição para o tratamento de dor e/ou inflamação também compreende um ou mais excipientes aceitáveis, tais como umectantes, tampões de pH, conservantes, agentes bactericidas e fungicidas, retardantes de absorção, aceleradores de absorção, ou qualquer outro excipiente conhecido pelo técnico no assunto.

[054] Em outra modalidade particular, os peptídeos compreendidos nas composições da presente invenção também podem ser adsorvidos em polímeros orgânicos sólidos, ou veículos minerais sólidos tais como, mas não limitados a, talco, bentonita, sílica, amido ou maltodextrina, *inter alia*.

[055] Em outra modalidade particular, as composições da invenção também podem ser incorporadas em tecidos, tecidos sem trama e dispositivos médicos que estão em contato direto com a pele, mucosa e/ou couro cabeludo, tal que liberam os peptídeos por biodegradação do sistema de ancoramento ao tecido, tecido sem trama ou dispositivo médico ou pela fricção destes com o corpo, umidade corporal, pH da pele ou pela temperatura corporal. Do mesmo modo, tecidos e

tecidos sem trama podem ser utilizados para produzir artigos de vestuário que estão em contato direto com o corpo.

[056] Exemplos de tecidos, tecidos sem trama, artigos de vestuário, dispositivos médicos e meios de imobilização dos peptídeos a eles, incluindo os sistemas de aplicação e/ou sistemas de liberação sustentada descritos acima podem ser encontrados descritos na literatura e são conhecidos no estado da técnica [Schaab C.K. (1986) "Impregnating Fabrics With Microcapsules", HAPPI May 1986; Nelson G. (2002) "Application of microencapsulation in textiles" *Int. J. Pharm.* 242:55-62; "Biofunctional Textiles and the skin" (2006) *Curr. Probl. Dermatol.* v.33, Hipler U.C and Elsner P., eds. S. Karger AG, Basel, Switzerland; Malcom R.K., McCullagh S.D., Woolfson A.D., Gorman S.P., Jones D.S and Cuddy J. (2004) "Controlled release of a model antibacterial drug from a novel self-lubricating silicone biomaterial" *J. Cont. Release* 97:313-320]. Tecidos preferenciais, tecidos sem trama, artigos de vestuário e dispositivos médicos são bandagens, gazes, camisetas, meias soquete, meias compridas, roupa íntima, cintas, luvas, fraldas, compressas, curativos, colchas, lenços descartáveis, hidrogéis, adesivos, materiais não adesivos, adesivos micro-elétricos e/ou máscaras faciais.

[057] Em outra modalidade particular, as composições compreendendo os peptídeos da presente invenção, seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis, podem ser utilizados em tipos diferentes de formulações para aplicação tópica ou transdérmica que conterá opcionalmente os excipientes aceitáveis necessários para a formulação da forma

de dosagem desejada [Faulí I Trillo C. (1993) em "Tratado de Farmacia Galénica" [Treatise on Galenic Pharmacy], Luzán 5, S.A. Ediciones, Madri].

[058] Formulações para aplicação tópica ou transdérmica podem ser apresentadas em qualquer forma de dosagem sólida, líquida ou semissólida, tal como, por exemplo, e não limitadas a estes, cremes, múltiplas emulsões tais como, por exemplo, e não são limitadas a estas, emulsões de óleo e/ou silicone em água, emulsões água em óleo e/ou silicone, emulsões água/óleo/água ou água/silicone/água e emulsões óleo/água/óleo ou silicone/água/silicone, composições anidras, dispersões aquosas, óleos, leites, bálsamos, espuma, loções, géis, soluções hidroalcoólicas, linimentos, soros, sabões, xampu, unguentos, musses, pomadas, pós, barras, lápis e pulverizador ou aerossol ("pulverizadores"), incluindo formulações "sem enxague" e formulações de "enxague imediato". Estas formulações para aplicação tópica ou transdérmica podem ser incorporadas por meio de técnicas conhecidas pelo técnico no assunto em diferentes tipos de acessórios sólidos tais como, por exemplo, e não são limitados a estes, lenços descartáveis, hidrogéis, adesivos, materiais não adesivos, ou máscaras faciais, ou podem ser incorporadas em diferentes produtos de linha de maquiagem.

[059] Em outra modalidade particular, as composições da invenção podem incluir adicionalmente agentes que aumentem a absorção percutânea dos peptídeos com fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis, tais como, por exemplo, mas não limitados a estes, dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, tensoativos, azona (1-

dodecilazacicloheptan-2-ona), álcool, acetona, propilenoglicol ou polietilenoglicol, *inter alia*. Do mesmo modo, as composições da presente invenção podem ser aplicadas a áreas locais a serem tratadas por via tópica ou transdérmica por injeção intradérmica, iontoforese, sonoforese, eletroporação, pressão mecânica, gradiente de pressão osmótica, tratamento oclusivo, microinjeções ou injeções de pressão sem agulhas, tais como injeções por pressão de oxigênio, adesivos micro-elétricos, ou qualquer combinação dos mesmos, a fim de alcançar a maior penetração do peptídeo da invenção. A área de aplicação será decidida pela natureza da dor e/ou inflamação a ser tratada.

[060] As composições da invenção também podem ser administradas, além da via tópica ou transdérmica, por qualquer outro meio apropriado, por exemplo, por via entérica ou parenteral, que incluirá os excipientes aceitáveis necessários para a formulação na forma de dosagem desejada. Uma revisão das diferentes formas de dosagem dos ingredientes ativos e excipientes necessários pode ser encontrada, por exemplo, em "*Tratado de Farmacia Galénica*", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madri.

[061] Em outra modalidade particular, a composição da invenção adicionalmente compreende uma quantidade eficaz de pelo menos um ingrediente ativo selecionado a partir do grupo que consiste em um agente antioxidante, um inibidor de NO-sintase, um agente de relaxamento cutâneo, um agente anti-inflamatório, um agente analgésico, um agente antimicrobiano, um agente antifúngico ou misturas dos mesmos.

[062] Em outra modalidade particular, a presente

invenção refere-se a uma composição que contém uma quantidade eficaz de pelo menos um peptídeo com fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis e uma quantidade eficaz de pelo menos um composto analgésico e/ou composto anti-inflamatório com o objetivo de aumentar o efeito analgésico e/ou anti-inflamatório das composições da invenção. Entre estes compostos estão incluídos compostos sintéticos, tais como hidrocortisona, clobetasol, dexametasona, prednisona, paracetamol, ácido acetilsalicílico, amoxiprina, benorilato, salicilato de colina, diflunisal, faislamina, salicilato de metila, salicilato de magnésio, salsalato, diclofenaco, aceclofenaco, acemetacina, bronfenaco, etodolaco, indometacina, sulindac, tolmetina, ibuprofeno, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, cetorolaco, loxoprofeno, naproxeno, oxaprozina, ácido tiaprofênico, suprofen, ácido, meclofenamato, ácido mefenâmico, nabumetona, fenilbutazona, azapropazona, metamizol, oxifenbutazona, sulfinpirazona, piroxicam, lornoxicam, meloxicam, tenoxicam, celecoxibe, etoricoxibe, lumiracoxibe, parecoxibe, rofecoxibe, valdecoxibe, nimesulida, licofelona, ácidos graxos ômega 3 e seus biometabólitos, morfina, codeína, oxicodona, hidrocodona, diamorfina, petidina, tramadol, brupenorfin, benzocaína, lidocaína, cloroprocaína, tetracaína, procaína, antidepressivos tricíclicos, amitriptilina, carbamazepina, gabapentina, pregabalina, bisabolol, pantenol, biotina, lauriminodipropionato dissódico, tocoferil fosfato, ciclopiroxolamina, ácido nordihidroguaiarético, coenzima Q10 ou éteres de alquil glicerol, ou extratos naturais ou óleos

essenciais com atividade analgésica e/ou anti-inflamatória intrínseca, tais como, por exemplo, mas não limitado a estes, madecassosídeo, equinacina, óleo de semente de amaranto, óleo de sândalo, extrato de placenta, extrato de folha de pêssigo, *Aloe vera*, *Arnica montana*, *Artemisia vulgaris*, *Asarum maximum*, *Calêndula officinalis*, *Cápsico*, *Centipede cunninghamii*, *Chamomilla recutita*, *Crinum asiaticum*, *Hamamelis virginiana*, *Harpagophytum procumbens*, *Hypericum perforatum*, *Lilium candidum*, *Malva sylvestris*, *Melaleuca alternifolia*, *Origanum majorana*, *Salix alba*, *Silybum marianum*, *Tanacetum parthenium* ou *Uncaria guianensis*, *inter alia*.

[063] A atividade biológica das composições da presente invenção foi determinada em modelos animais de dor e inflamação. As composições da invenção podem reduzir a inflamação produzida pela injeção intraplantar de carragena, bem como inibir a hiperalgesia térmica produzida pela injeção intraplantar do Adjuvante de Freund Completo (CFA).

[064] Em outra modalidade particular, as composições da presente invenção são adequadas para o tratamento da dor e/ou inflamação que ocorre em resposta a vários estímulos nocivos (mecânicos, químicos e térmicos) que causam dor inflamatória aguda e crônica, bem como de lesões no sistema nervoso que causam dor neuropática, e a dor e/ou inflamação naquelas patologias que envolvem dor visceral. Entre dor e inflamação estão incluídos, por exemplo, mas não limitados a isso, dor neuropática, dor inflamatória, dor visceral, incluindo dor abdominal, dor do sistema digestório, dor do sistema respiratório, dor do sistema urogenital, dor do sistema endócrino, dor cardíaca, dor pancreática, dor intestinal, dor de estômago, dor esplênica, dor de vaso

sanguíneo, síndrome de intestino irritável, cefaleia tensional, dor de cabeça associada à sinusite, enxaqueca, dor ocular, síndrome de olho seco, dor pós-operatória, incluindo dor pós-operatória devida a incisões cirúrgicas, inserção de implantes no osso, substituição e/ou infecção óssea, dor devida ao câncer, incluindo dor devida ao câncer ósseo, dor associada com tumores ósseos benignos, incluindo osteoma osteoide, osteoblastomas, dor devida ao tratamento de câncer, dor musculoesquelética, fibromialgia, neuralgia, dor de pescoço associada com distonia cervical, dor nas costas, incluindo lumbago e/ou ciática, inflamação neurogênica, irritação de pele, pele sensível, dermatite atópica, dermatite de contato, dermatite de fralda, eczema, artrite, artrite reumatoide, osteoartrite, neuralgia pós-herpética, neuropatias periféricas, dor fantasma, alodinia, dor devida à síndrome de túnel do carpo, dor em queimação, parestesias, dor facial, neuralgia do trigêmeo, dor neuropática devida ao diabetes, dor associada à tatuagem ou remoção de tatuagem, dor devida a joanetes, dor testicular, dor miofacial, dor muscular espasmódica, dor da bexiga urinária, dor do trato urinário, dor vulvar, dor vaginal, dor escrotal, dor perineal, dor pélvica, dor ou irritação cutânea após cirurgia, após tratamento com terapia de luz pulsada (IPL, Luz Pulsada Intensa), após tratamento com terapia de luz pulsada monocromática (laser), após tratamento com agentes de esfoliação química ou após exposição demasiadamente longa a agentes externos agressivos, tais como exposição demasiadamente longa a luz solar ou frio ou calor extremos.

[065] Em particular, o tratamento da dor pós-operatória é feito pela administração da composição da invenção

antes, durante ou imediatamente após cirurgia. Preferencialmente, o procedimento cirúrgico é selecionado a partir do grupo que consiste em remoção de tumores, implantes ósseos, remoção óssea, procedimentos de cirurgia cosmética, cirurgia exploratória e incisões cutâneas.

[066] Um segundo aspecto da presente invenção refere-se a um peptídeo com fórmula geral (I),



(I)

seus estereoisômeros e misturas dos mesmos, racêmicos ou não, e seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis, onde

AA é uma sequência de 3 a 40 aminoácidos adjacentes contidos na sequência de aminoácidos da SEQ ID No. 1;

R₁ é selecionado a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído, aliciclila substituída ou não substituída, heterociclila substituída ou não substituída, heteroarilalquila substituída ou não substituída, arila substituída ou não substituída, aralquila substituída ou não substituída, e R₅-C(O)-; e

R₂ é selecionado a partir do grupo que consiste em -NR₃R₄, -OR₃ e -SR₃, onde R₃ e R₄ são selecionados independentemente a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído, aliciclila substituída ou não substituída, heterociclila substituída ou não substituída, heteroarilalquila substituída ou não substituída, arila substituída ou não substituída e aralquila substituída ou não substituída; e

R₅ é selecionado a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído,

alíciclila substituída ou não substituída, arila substituída ou não substituída, aralquila substituída ou não substituída, heterociclila substituída ou não substituída e heteroarilalquila substituída ou não substituída, para o tratamento de dor e/ou inflamação.

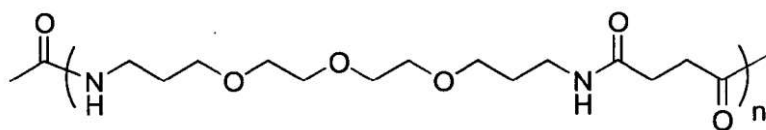
[067] Em outra modalidade particular, AA é uma sequência de 3 para 30 aminoácidos adjacentes contidos na sequência de aminoácidos da SEQ ID No. 1.

[068] Em outra modalidade particular, as estruturas preferenciais dos peptídeos representados na fórmula geral (I) são aquelas onde

R₁ é H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído de C₂ a C₂₄, grupo alíciclila substituído ou não substituído de C₂ a C₂₄, ou R₅-C(O)- em que R₅ é o grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído de C₁ a C₂₄ ou grupo alíciclila substituído ou não substituído de C₁ a C₂₄; e

R₂ é -NR₃R₄ ou -OR₃, em que R₃ e R₄ são selecionados independentemente a partir do grupo que consiste em H, grupo alifático não cíclico substituído ou não substituído de C₁ a C₂₄, e grupo alíciclila substituído ou não substituído de C₁ a C₂₄.

[069] Em outra modalidade particular, as estruturas mais preferenciais são aquelas nas quais R₁ é um polímero de polietilenoglicol. Estruturas ainda mais preferenciais são aquelas nas quais o polímero de polietilenoglicol é



em que n pode variar de 1 a 100, e mais preferencialmente pode variar entre 1 e 5.

[070] Em outra modalidade particular, estruturas preferenciais são aquelas onde R_1 é H, acetila, ter-butanoíla, hexanoíla, 2-metil-hexanoíla, ciclohexanocarboxila, octanoíla, decanoíla, lauroíla, miristoíla, palmitoíla, estearoíla, oleoíla e linoleoíla.

[071] Em outra modalidade particular, estruturas preferenciais são aquelas onde R_3 e R_4 são selecionados independentemente a partir do grupo que consiste em H, metila, etila, hexila, dodecila e hexadecila.

[072] Peptídeos utilizados para o tratamento de dor e/ou inflamação podem existir como estereoisômeros ou misturas de estereoisômeros; por exemplo, os aminoácidos que os compõem podem ter configuração L ou D, ou serem racêmicos independentemente entre si. Por isso, é possível obter misturas isoméricas bem como racematos ou misturas diastereoméricas ou diastereômeros ou enantiômetros puros, dependendo do número de carbonos assimétricos e que isômeros ou misturas isoméricas estão presentes. As estruturas preferenciais dos peptídeos são isômeros puros, isto é, enantiômetros ou diastereômeros.

[073] Entre os peptídeos derivados da sequência de aminoácidos de SNAP-25 definidos pela SEQ ID No. 1 utilizados para tratar dor e/ou a inflamação, sequências preferenciais são aquelas que possuem uma sequência de aminoácidos adjacentes contida na sequência da região amino terminal da proteína SNAP-25, definida pela SEQ ID No. 2 ou a região carbóxi terminal da proteína SNAP-25, definida pela SEQ ID No. 3, mais preferencialmente contida na região entre os resíduos 10 e 22, definida pela SEQ ID No. 4, ou contida na

região entre os resíduos 25 e 40, definida pela SEQ ID No. 5, ou contida na região entre os resíduos 65 e 81 definida pela SEQ ID No. 6, ou contida na região entre os resíduos 181 e 206, definida pela SEQ ID No. 7, mais precisamente na região entre os resíduos 12 e 19, definida pela SEQ ID No. 8, ou contida na região entre os resíduos 26 e 38, definida pela SEQ ID No. 9, ou contida na região entre os resíduos 68 e 79, definida pela SEQ ID No. 10, e especificamente contida na região entre os resíduos 12 e 17, definida pela SEQ ID No. 11.

[074] Em particular, sequências de aminoácidos preferenciais são aquelas que têm uma sequência de aminoácidos adjacentes contida em qualquer uma das sequências selecionadas a partir do grupo que consiste em SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 6, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 8, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 10, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 12, 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, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 22, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 24, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 26, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 28, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 30, SEQ ID No. 31 e SEQ ID No. 32.

[075] Além disso, a invenção também inclui peptídeos substancialmente homólogos aos peptídeos derivados da sequência de aminoácidos da proteína SNAP-25, quimicamente modificada de um modo irreversível para tratar dor e/ou inflamação.

[076] Dentro do âmbito da presente invenção também estão incluídos os sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis de peptídeos com fórmula geral (I). A natureza do sal não é crítica, contanto que seja cosmeticamente ou farmacologicamente aceitável. Os sais

cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis dos peptídeos podem ser obtidos por métodos convencionais, bem conhecidos no estado da técnica [Berge S.M., Bighley L.D and Monkhouse D.C. (1977) "Pharmaceutical Salts" J. Pharm. Sci. 66:1-19].

[077] Adicionalmente, os peptídeos podem sofrer modificações químicas reversíveis para aumentar sua biodisponibilidade e facilitar a travessia pela barreira hematoencefálica ou tecido epitelial.

[078] Peptídeos com a fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis para o tratamento de dor e/ou inflamação podem ser incorporados em composições e podem ser administrados por qualquer meio que produza contato dos peptídeos com seu sítio de ação no corpo de um mamífero, preferencialmente seres humanos. Estas composições podem ser preparadas por métodos convencionais conhecidos por versados na técnica ["Harry's Cosmeticology", Eight [sic] edition (2000) Rieger M.M., ed., New York Chemical Pub., NY, US; "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Twentieth edition (2003) Genaro A.R., ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, US].

[079] Peptídeos com a fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis para o tratamento de dor e/ou inflamação têm solubilidade variável em água, dependendo da natureza das suas sequências ou as possíveis modificações no terminal amino e/ou carbóxi que eles têm. Por isso, os peptídeos podem ser incorporados em composições por meio de uma solução aquosa, e aqueles que não são solúveis em água podem ser solubilizados em solventes

convencionais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis tais como, por exemplo, e não limitado a estes, etanol, propanol, isopropanol, propilenoglicol, glicerina, butilenoglicol ou polietilenoglicol ou qualquer combinação dos mesmos.

[080] A quantidade eficaz de peptídeos com fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis que deve ser administrada para tratar dor e/ou inflamação, bem como sua dosagem, irá depender do número de fatores, incluindo idade, condição do paciente, a causa da dor e/ou inflamação, a severidade da dor e/ou inflamação, a via e frequência de administração e a natureza particular dos peptídeos utilizados.

[081] Peptídeos com a fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis estão contidos na composição de concentrações eficazes para alcançar o efeito desejado para o tratamento de dor e/ou inflamação; preferencialmente, em referência ao peso total da composição, entre 0,00000001% (em peso) e 20% (em peso), mais preferencialmente entre 0,000001% (em peso) e 20% (em peso), mais preferencialmente entre 0,0001% (em peso) e 10% (em peso) e mais especificamente entre 0,0001% (em peso) e 5% (em peso).

[082] Em outra modalidade particular, os peptídeos com a fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis para o tratamento de dor e/ou inflamação são incorporados em sistemas de aplicação e/ou sistemas de liberação sustentada.

[083] Estes veículos podem ser líquidos, tais como água, óleos ou tensoativos, incluindo aqueles de origem de petróleo, animal, vegetal ou sintética, tais como, por exemplo, e não são limitados a estes, óleo de amendoim, óleo de soja, óleo mineral, óleo de sésamo, óleo de rícino, polissorbatos, ésteres de sorbitano, éter sulfatos, sulfato, betaínas, glicosídeos, maltosídeos, álcoois graxos, nonoxinol, poloxâmeros, polioxietilenos, polietilenoglicóis, dextrose, glicerol e similares. "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin descreve diluentes, adjuvantes ou excipientes como veículos apropriados.

[084] Exemplos de sistemas de aplicação ou liberação sustentada incluem lipossomas, milipartículas, micropartículas, nanopartículas, esponjas, vesículas, micelas, miliesferas, microesferas e nanoesferas, lipoesferas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, microemulsões e nanoemulsões, que pode ser adicionadas para alcançar maior penetração do ingrediente ativo e/ou melhorar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas.

[085] Em outra modalidade particular, as formulações de liberação sustentada podem ser preparadas por métodos conhecidos no estado da técnica, e as composições que os contêm podem ser administradas, por exemplo, por administração tópica, incluindo adesivos ou materiais não adesivos, ou por administração sistêmica, tal como, por exemplo, e não limitada a estas, pela via entérica ou parenteral e preferencialmente devem liberar uma quantidade relativamente constante dos peptídeos da composição. A quantidade do peptídeo contido na formulação de liberação sustentada dependerá, por exemplo, do sítio de administração,

da cinética e duração da liberação do peptídeo das composições da invenção, bem como da causa e severidade da dor e/ou inflamação, da via, frequência de administração e da natureza particular dos peptídeos a serem utilizados.

[086] Em outra modalidade particular, os peptídeos com a fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis para o tratamento de dor e/ou inflamação são incorporados em uma composição que adicionalmente inclui veículos e/ou agentes auxiliares aceitáveis necessários para a administração da composição na maneira desejada. Entre veículos e/ou agentes auxiliares são incluídos excipientes, espessantes, diluentes, solventes, dispersantes, agentes para melhorar o congelamento a vácuo ou adjuvantes adequados para cada via de administração e que são conhecidos pelo técnico no assunto. Espessantes incluem, mas não são limitados a, polímeros solúveis em água, tais como aqueles selecionados a partir do grupo que consiste em celuloses modificadas, metilcelulose, etilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxietilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose e carboximetilcelulose, dextranas, gelatina, colágeno, ácido hialurônico, polietilenoglicol ou polivinil pirrolidona. Diluentes e solventes incluem, mas não são limitados aos selecionados a partir do grupo que consiste em etanol, polietilenoglicol, glicofurol, N-metil-2-pirrolidona, glicerol, propanodiol, polipropilenoglicol, benzil álcool ou dimetilsulfóxido. Dispersantes incluem, mas não são limitados a, tensoativos selecionados a partir do grupo que consiste em monoésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitano

(Tween®, Emalex, Nikkol®, Hodag, Dacol ou Liposorb®), monoésteres de ácido graxo do sorbitano (Span®), 15-hidroxiestearato de polietilenoglicol (Solutol® HS15), ésteres de ácido graxo de polietilenoglicol (Crodet, Cithrol, Kessco®, Nikkol®, Mapeg®, Myrj, Tagat®, Aldo®, Capmul®, Glycerox, Lactomul® ou Emerest®), ésteres de polioxietilenoglicol (Emulphor®), óleo de rícino polietoxilados (Cremophor®, Emalex, Eumulgin®, Nikkol® ou Simusol®), ésteres de ácido graxo de poliglicerol (Nikkol Decaglyn, Polymuls, Caprol®), éteres de polietilenoglicol (Volpo ou Brij®), poloxâmeros (Lutrol® ou Pluronic®), éteres de fenil polioxietileno (Triton® ou Igepal®), ou misturas dos mesmos. Agentes para melhorar o congelamento a vácuo incluem, mas não são limitados a, açúcares, tais como aqueles selecionados a partir do grupo que consiste em manitol, sacarose, glicose, frutose, lactose, trehalose, sacarose, dextrose, sorbitol e glicina, gelatina, polivinil pirrolidona, ou misturas dos mesmos. Preferencialmente, a composição para o tratamento de dor e/ou inflamação também compreende um ou mais excipientes aceitáveis, tais como umectantes, tampões de pH, conservantes, agentes bactericidas e fungicidas, retardantes de absorção, aceleradores de absorção ou qualquer outro excipiente conhecido pelo elemento versado na técnica.

[087] Em outra modalidade particular, os peptídeos com fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis para o tratamento de dor e/ou inflamação também podem ser adsorvidos em polímeros orgânicos sólidos, ou veículos minerais sólidos tais como, mas não limitados a, talco, bentonita, sílica, amido ou maltodextrina,

inter alia.

[088] Em outra modalidade particular, as composições da invenção também podem ser incorporadas em tecidos, tecidos sem trama e dispositivos médicos que estão em contato direto com a pele, mucosa e/ou couro cabeludo, tal que liberam os peptídeos por biodegradação do sistema de ancoramento ao tecido, tecido sem trama ou dispositivo médico ou pela fricção destes com o corpo, umidade corporal, pH da pele ou temperatura corporal. Do mesmo modo, tecidos e tecidos sem trama podem ser utilizados para produzir artigos de vestuário que estão em contato direto com o corpo.

[089] Exemplos de tecidos, tecidos sem trama, artigos de vestuário, dispositivos médicos e meios de imobilização dos peptídeos a eles, incluindo os sistemas de aplicação e/ou sistemas de liberação sustentada descritos acima podem ser encontrados descritos na literatura e são conhecidos no estado da técnica [*Schaab C.K. (1986) "Impregnating Fabrics With Microcapsules", HAPPI May 1986; Nelson G. (2002) "Application of microencapsulation in textiles" Int. J. Pharm. 242:55-62; "Biofunctional Textiles and the skin" (2006) Curr. Probl. Dermatol. v.33, Hipler U.C and Elsner P., eds. S. Karger AG, Basel, Switzerland; Malcom R.K., McCullagh S.D., Woolfson A.D., Gorman S.P., Jones D.S and Cuddy J. (2004) "Controlled release of a model antibacterial drug from a novel self-lubricating silicone biomaterial" J. Cont. Release 97:313-320*]. Tecidos preferenciais, tecidos sem trama, artigos de vestuário e dispositivos médicos são bandagens, gases, camisetas, meias, meias compridas, roupa íntima, cintas, luvas, fraldas, compressas, curativos, colchas, lenços descartáveis,

hidrogéis, adesivos, materiais não adesivos, adesivos micro-elétricos e/ou máscaras faciais.

[090] Em outra modalidade particular, os peptídeos com a fórmula geral (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis estão contidos em composições que podem ser utilizadas em diferentes tipos de formulações para aplicação tópica ou transdérmica que conterão opcionalmente os excipientes aceitáveis necessários para a formulação da forma de dosagem desejada [*Faulí I Trillo C. (1993) em "Tratado de Farmacia Galénica" [Treatise on Galenic Pharmacy], Luzán 5, S.A. Ediciones, Madri*].

[091] Formulações para aplicação tópica ou transdérmica podem ser apresentadas em qualquer forma de dosagem sólida, líquida ou semissólida, tal como, por exemplo, e não são limitadas a estas, cremes, múltiplas emulsões tais como, por exemplo, e não são limitadas a estas, emulsões óleo e/ou silicone em água, emulsões água em óleo e/ou silicone, emulsões água/óleo/água ou água/silicone/água e emulsões óleo/água/óleo ou silicone/água/silicone, composições anidras, dispersões aquosas, óleos, leites, bálsamos, espuma, loções, géis, soluções hidroalcoólicas, linimentos, soros, sabões, xampu, unguentos, musses, pomadas, pós, barras, lápis e pulverizador ou aerossol ("pulverizadores"), incluindo formulações "sem enxague" e formulações de "enxague imediato". Estas formulações para aplicação tópica ou transdérmica podem ser incorporadas por meio de técnicas conhecidas pelo técnico no assunto em diferentes tipos de acessórios sólidos tais como, por exemplo, e não são limitados a estes, lenços descartáveis, hidrogéis, adesivos, materiais não adesivos ou máscaras

faciais, ou podem ser incorporadas em diferentes produtos de linha de maquiagem.

[092] Em outra modalidade particular, os peptídeos com a fórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis estão contidos em composições que podem incluir agentes adicionais que aumenta a absorção percutânea de peptídeos com fórmula (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis, tais como, por exemplo, mas não limitados a estes, dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, tensoativos, azona(1-dodecilazacicloheptan-2-ona), álcool, acetona, propilenoglicol ou polietilenoglicol, *inter alia*. Do mesmo modo, estas composições podem ser aplicadas a áreas locais a serem tratados por via tópica ou transdérmica por injeção intradérmica, iontoforese, sonoforese, eletroporação, pressão mecânica, gradiente de pressão osmótica, tratamento oclusivo, microinjeções ou injeções de pressão sem agulhas, tais como injeções por pressão de oxigênio, adesivos micro-elétricos ou qualquer combinação dos mesmos, a fim de alcançar a maior penetração do peptídeo da invenção. A área de aplicação será decidida pela natureza da dor e/ou inflamação a tratar.

[093] Os peptídeos com a fórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis que estão contidos em composições podem ser administrados além da via tópica ou transdérmica, por quaisquer outros meios apropriados, por exemplo, por via entérica ou parenteral, que incluirá os excipientes aceitáveis necessários para a

formulação na forma de dosagem desejada. Uma revisão das diferentes formas de dosagem dos ingredientes ativos e excipientes para obtê-los pode ser encontrada, por exemplo, em *"Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madri.*

[094] Em outra modalidade particular, os peptídeos com afórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis estão contidos em composições que compreendem adicionalmente uma quantidade eficaz de pelo menos um ingrediente ativo selecionado a partir do grupo que consiste em um agente antioxidante, um inibidor de NO-sintase, um agente de relaxamento cutâneo, um agente anti-inflamatório, um agente analgésico, um agente antimicrobiano, um agente antifúngico ou misturas dos mesmos.

[095] Em outra modalidade particular, os peptídeos com afórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis estão contidos em composições que também contém uma quantidade eficaz de pelo menos um composto analgésico e/ou composto anti-inflamatório com o objetivo de aumentar o efeito analgésico e/ou anti-inflamatório das composições. Entre estes compostos estão incluídos compostos sintéticos destacados, tais como hidrocortisona, clobetasol, dexametasona, prednisona, paracetamol, ácido acetilsalicílico, amoxiprina, benorilato, salicilato de colina, diflunisal, faislamina, salicilato de metila, salicilato de magnésio, salsalato, diclofenaco, aceclofenaco, acemetacina, bronfenaco, etodolaco, indometacina, sulindac, tolmetina, ibuprofeno, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, flurbiprofeno,

cetoprofeno, ceterolaco, loxoprofeno, naproxeno, oxaprozina, ácido tiaprofênico, suprofen, ácido, meclofenamato, ácido mefenâmico, nabumetona, fenilbutazona, azapropazona, metamizol, oxifenbutazona, sulfinpirazona, piroxicam, lornoxicam, meloxicam, tenoxicam, celecoxibe, etoricoxibe, lumiracoxibe, parecoxibe, rofecoxibe, valdecoxibe, nimesulida, licofelona, ácidos graxos ômega 3 e seus biometabólitos, morfina, codeína, oxicodona, hidrocodona, diamorfina, petidina, tramadol, brupenorfin, benzocaína, lidocaína, cloroprocaína, tetracaína, procaína, antidepressivos tricíclicos, amitriptilina, carbamazepina, gabapentina, pregabalina, bisabolol, pantenol, biotina, lauriminodipropionato dissódico, tocoferil fosfato, ciclopiroxolamina, ácido nordihidroguaiarético, coenzima Q10 ou éteres de alquil glicerol, ou extratos naturais ou óleos essenciais com atividade analgésica e/ou anti-inflamatória intrínseca, tais como, por exemplo, mas não limitado a estes, madecassosídeo, equinacina, óleo de semente de amaranto, óleo de sândalo, extrato de placenta, extrato de folha de pêssego, *Aloe vera*, *Arnica montana*, *Artemisia vulgaris*, *Asarum maximum*, *Calêndula officinalis*, *Cápsico*, *Centipede cunninghamii*, *Chamomilla recutita*, *Crinum asiaticum*, *Hamamelis virginiana*, *Harpagophytum procumbens*, *Hypericum perforatum*, *Lilium candidum*, *Malva sylvestris*, *Melaleuca alternifolia*, *Origanum majorana*, *Salix alba*, *Silybum marianum*, *Tanacetum parthenium* ou *Uncaria guianensis*, *inter alia*.

[096] A atividade biológica dos peptídeos com fórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis foi determinada em modelos animais de dor e inflamação. Estes

peptídeos são capazes de reduzir a inflamação produzida pela injeção intraplantar de carragena, bem como inibir a hiperalgesia térmica produzida pela injeção intraplantar do Adjuvante de Freund Completo (CFA).

[097] Em outra modalidade particular, os peptídeos com fórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmacologicamente aceitáveis são adequados para o tratamento da inflamação que ocorre em resposta a vários estímulos nocivos (mecânicos, químicos e térmicos) que causam dor inflamatória aguda e crônica, bem como de lesões no sistema nervoso que causam dor neuropática, e da dor e/ou inflamação naquelas patologias que envolvem dor visceral. Entre dor e inflamação estão incluídos, por exemplo, mas não limitados a estas, dor neuropática, dor inflamatória, dor visceral, incluindo dor abdominal, dor do sistema digestório, dor do sistema respiratório, dor do sistema urogenital, dor do sistema endócrino, dor cardíaca, dor pancreática, dor intestinal, dor de estômago, dor esplênica, dor de vaso sanguíneo, síndrome de intestino irritável, cefaleia tensional, dor de cabeça associada à sinusite, enxaqueca, dor ocular, síndrome de olho seco, dor pós-operatória, incluindo dor pós-operatória devida a incisões cirúrgicas, inserção de implantes no osso, substituição e/ou infecção óssea, dor devida ao câncer, incluindo dor devida ao câncer ósseo, dor associada com tumores ósseos benignos, incluindo osteoma osteoide, osteoblastomas, dor devida ao tratamento de câncer, dor musculoesquelética, fibromialgia, neuralgia, dor de pescoço associada com distonia cervical, dor nas costas, incluindo lumbago e/ou ciática, inflamação neurogênica, irritação de pele, pele sensível, dermatite

atópica, dermatite de contato, dermatite de fralda, eczema, artrite, artrite reumatoide, osteoartrite, neuralgia pós-herpética, neuropatias periféricas, dor fantasma, alodinia, dor devida à síndrome de túnel do carpo, dor em queimação, parestesias, dor facial, neuralgia do trigêmeo, dor neuropática devido ao diabetes, dor associada à tatuagem ou remoção de tatuagem, dor devida a joanetes, dor testicular, dor miofacial, dor muscular espasmódica, dor da bexiga urinária, dor do trato urinário, dor vulvar, dor vaginal, dor escrotal, dor perineal, dor pélvica, dor ou irritação cutânea após cirurgia, após tratamento com terapia de luz pulsada (IPL, Luz Pulsada Intensa), após tratamento com terapia de luz pulsada monocromática (laser), após tratamento com agentes de esfoliação química ou após exposição demasiadamente longa a agentes externos agressivos, tal como exposição demasiadamente longa a luz solar ou frio ou calor extremos.

[098] Em particular, o tratamento da dor pós-operatória é feito pela administração da composição da invenção antes, durante ou imediatamente após a cirurgia. Preferencialmente, o procedimento cirúrgico é selecionado a partir do grupo que consiste em remoção de tumores, implantes ósseos, remoção óssea, procedimentos de cirurgia cosmética, cirurgia exploratória e incisões cutâneas.

[099] Em outro aspecto, a presente invenção refere-se ao tratamento de dor e/ou inflamação, um método que compreende a administração de uma quantidade eficaz de pelo menos um peptídeo com fórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis, preferencialmente na forma de uma composição cosmética ou farmacêutica que os contém. A

presente invenção também fornece um método para o tratamento de dor e/ou inflamação compreendendo a aplicação à pele, mucosa e/ou couro cabeludo, ou administração entérica ou parenteral de uma composição contendo pelo menos um peptídeo com fórmula geral (I) seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou seus sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis.

[0100] A presente invenção também apresenta um método para o tratamento e ou prevenção da dor pós-operatória em um paciente submetido a um procedimento cirúrgico que inclui administração ao dito paciente de uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um peptídeo com fórmula (I), seus estereoisômeros, misturas dos mesmos ou sais cosmeticamente ou farmacêuticamente aceitáveis, preferencialmente na forma de uma composição farmacêutica que o contém, antes, durante ou imediatamente após a cirurgia. Preferencialmente, o procedimento cirúrgico é selecionado a partir do grupo que consiste em remoção de tumores, implantes ósseos, remoção óssea, procedimentos de cirurgia cosmética, cirurgia exploratória e incisões cutâneas.

EXEMPLOS

[0101] Os seguintes exemplos específicos aqui fornecidos são destinados a ilustrar a natureza da presente invenção. Estes exemplos são para fins ilustrativos somente e não devem ser interpretados como limitações da invenção neste pedido reivindicada.

Metodologia geral

Abreviaturas:

[0102] As abreviaturas utilizadas para os aminoácidos seguem as regras da Comissão da Nomenclatura Bioquímica da IUPAC-IUB especificadas em *Eur. J. Biochem.* (1984)

138, 9-37 e *J. Biol Chem* (1989) 264, 633-673.

[0103] NSAIDs, fármacos anti-inflamatórios não esteroidais, ATP, adenosina trifosfato; BK, bradiginina; BoNT A, sorotipo de toxina botulínica A; CFA, adjuvante de Freund completo; CGRP, gene de calcitonina relacionado a peptídeo; IL, interleucina; NGF, fator de crescimento neuronal; Palm, palmitoíla; PEG, polietilenoglicol; PEG_n, -[NH-CH₂-(CH₂CH₂O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-CH₂CH₂-CO-]_n; PKA proteína quinase A, PKC, proteína quinase C, SNAP-25, proteína associada a sinaptossoma (25kDa), SP, substância P, TNF, fator de necrose tumoral; TRPV1, receptor de potencial transiente vaniloide 1.

EXEMPLO 1. Peptídeos reduzem a inflamação produzida pela injeção intraplantar de carragena.

[0104] Para demonstrar que os peptídeos derivados da proteína SNAP-25 têm atividade anti-inflamatória *in vivo* foi utilizado o teste de carragena. Carragena é uma substância irritante cuja administração causa uma inflamação potente quatro horas após administração. O processo inflamatório pode ser facilmente discernido como um aumento no volume da pata que recebeu carragena, medido com um pletismômetro. A tabela 1 mostra os valores da atividade anti-inflamatória dos peptídeos administrados em 5 mg/kg (im) utilizando diclofenaco (10 mg/kg) como controle positivo e padronizando em relação aos valores de redução na inflamação obtidos pelo controle positivo. Por isso, os peptídeos da presente invenção têm atividade anti-inflamatória *in vivo*.

Tabela 1.

COMPOSIÇÃO	ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA
diclofenaco	100%
Ac-LESTRMLQLVEE-NH ₂	98%

Palm-EEMQRR-MH2	81%
Palm-LESTRMLQLVEE-NH2	77%
Ac-ELEEMQRRADQLA-NH2	65%
Palm-ELEEMQRRADQLA-NH2	58%
Ac-PEG5-EEMQRR-NH2	53%
Ac-EEMQRR-NH2	49%
Ac-PEG3-EEMQRR-NH2	42%
Ac-PEG2-EEMQRR-NH2	29%
Ac-PEG4-EEMQRR-NH2	23%
Ac-PEG1-EEMQRR-NH2	21%
Ac-EEMQRR-NH2	14%

EXEMPLO 2. Peptídeos inibem hiperalgesia térmica produzida pela injeção intraplantar de Adjuvante de Freund Completo (CFA).

[0105] Para avaliar a atividade analgésica dos peptídeos em um modelo da dor crônica é utilizada a administração intraplantar de CFA (1%) que produz um processo inflamatório acompanhado por hiperalgesia térmica em 24 h após administração da substância irritante. Hiperalgesia térmica é facilmente avaliada utilizando equipamento de teste plantar que enfoca uma fonte irradiativa na pata do animal, estimando o tempo de latência da irradiação à retirada da pata. Neste modelo, comparamos a eficácia analgésica dos peptídeos (1 mg/kg, i.m.) com ibuprofeno (1 mg/kg, i.m.) 24 horas após injeção de CFA. Também monitoramos a sensibilidade térmica na pata contralateral (injetada com veículo de CFA) após uma, duas, quatro e seis horas pós-CFA. A Figura 1 mostra que os peptídeos reduziram a hiperalgesia térmica duas horas após a administração. Por isso, os peptídeos da invenção possuem atividade analgésica/anti-inflamatória no modelo de dor crônica.

REIVINDICAÇÕES

1. USO DE UM PEPTÍDEO, com a fórmula geral (I)

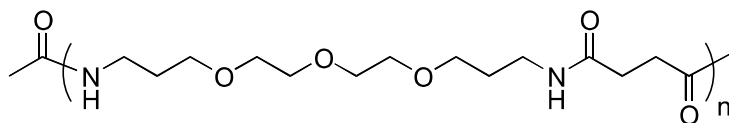


(I)

suas misturas, e seus sais cosmética e farmaceuticamente aceitáveis, em que

AA é uma sequência de aminoácidos adjacentes selecionado do grupo que consiste SEQ ID No.8, SEQ ID No.11, 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, SEQ ID No.21, SEQ ID No.22, SEQ ID No.23, SEQ ID No.24, SEQ ID No.25 e SEQ ID No.26;

R₁ é selecionado do grupo que consiste em acetila, palmitoíla, e acetila-PEG_n



em que n pode variar entre 1 e 5, e

R₂ é -NR₃R₄, em que R₃ e R₄ são H;

caracterizado pelo dito uso ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento da dor e/ou da inflamação.

2. USO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo peptídeo com fórmula geral (I), suas misturas, ou seus sais cosmética ou farmaceuticamente aceitáveis, serem incorporados em um sistema de aplicação ou de liberação sustentada selecionados do grupo que consiste em lipossomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, vesículas, micelas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, lipoesferas, microemulsões, nanoemulsões, milipartículas, micropartículas e nanopartículas.

3. USO, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo peptídeo ser adsorvido em um polímero orgânico ou um veículo mineral sólido selecionado de um grupo que consiste em talco, bentonita, sílica, amido ou maltodextrina.

4. USO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, caracterizado pelo peptídeo estar contido em uma formulação selecionada do grupo que consiste em cremes, emulsões múltiplas, composições anidras, dispersões aquosas, óleos, leites, bálsamos, espumas, loções, géis, soluções hidroalcoólicas, linimentos, soros, sabões, xampus, unguentos, mousses, pomadas, pós, barras, lápis, sprays e aerossóis.

5. USO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, caracterizado pelo peptídeo ser incorporado em um pano, um pano não-tecido ou um dispositivo médico.

6. USO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, caracterizado pelo peptídeo estar contido em uma composição que compreende uma quantidade eficaz de pelo menos um ingrediente ativo selecionado do grupo que consiste em um agente antioxidante, um inibidor de NO-sintase, um agente relaxante da pele, um agente anti-inflamatório, um agente analgésico, um agente microbicida, um agente fungicida, ou as suas misturas.

7. USO, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, caracterizado pelo peptídeo estar compreendido em uma formulação tópica, enteral ou parenteral.

8. USO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela dor e/ou a inflamação serem selecionadas do grupo que consiste em dor neuropática, dor inflamatória, dor

visceral, dor abdominal, dor do sistema digestivo, dor do sistema respiratório, dor do sistema urogenital, dor do sistema endócrino, dor do coração, dor pancreática, dor intestinal, dor do estômago, dor do baço, dor de vaso sanguíneo, síndrome de intestino irritável, dor de cabeça da tensão, dor de cabeça associada com a sinusite, enxaqueca, dor dos olhos, síndrome de olhos secos, dor pós-operatória, dor pós-operatória devida a incisões cirúrgicas, dor pós-operatória devida à inserção de implantes no osso, dor pós-operatória devida à substituição de osso, dor pós-operatória devida à infecção, dor devida ao câncer, dor devida ao câncer do osso, dor associada com tumores benignos do osso, dor associada com osteoma osteoide, dor associada com osteoblastomas, dor devida ao tratamento do câncer, dor musculoesquelética, fibromialgia, dor dos nervos, dor de garganta associada com a distonia cervical, dor nas costas, lumbago, ciática, inflamação neurogênica, irritação da pele, pele sensível, dermatite atópica, dermatite de contato, dermatite de fraldas, eczema, artrite, artrite reumatoide, osteodistrofia, neuralgia pós-herpética, neuropatias periféricas, dor fantasma, alodinia, dor devida à síndrome de túnel carpal, dor de queimação, parestesia, dor facial, neuralgia trigeminal, dor neuropática devida ao diabetes, dor associada com tatuagem ou remoção de tatuagem, dor devida a joanetes, dor testicular, dor miofascial, dor da bexiga urinária, dor do trato urinário, dor vulvar, dor vaginal, dor escrotal, dor perineal, dor pélvica, dor ou irritação da pele após a cirurgia, após o tratamento com terapia com luz pulsada (IPL, Luz Pulsante Intensa), após o tratamento com terapia com luz monocromática pulsada (laser), após o tratamento com agentes esfoliantes químicos ou após a superexposição a agentes externos agressivos.

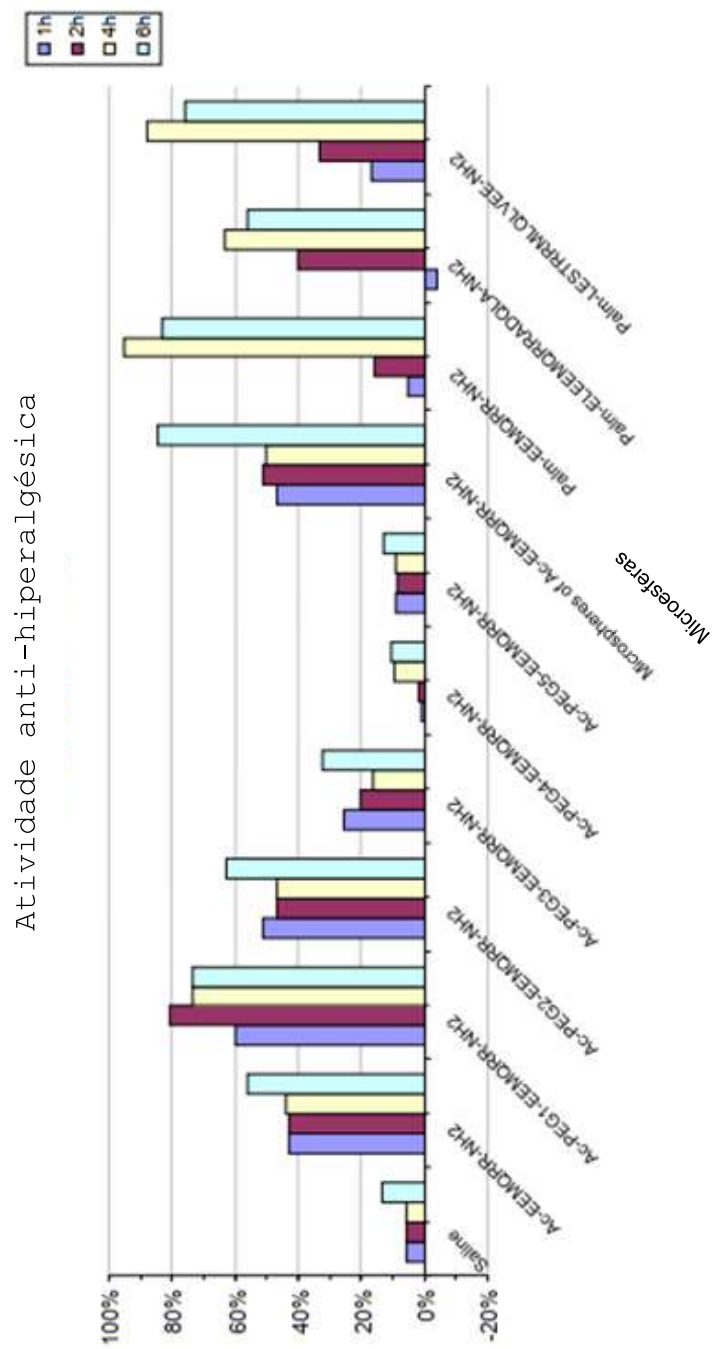


FIG.1