

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 448**

51 Int. Cl.:

A61K 38/02 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.05.2005 E 05779362 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2015 EP 1750741**

54 Título: **Procedimientos de tratamiento de enfermedades con copolímeros aleatorios**

30 Prioridad:

07.05.2004 US 569292 P
18.03.2005 US 663333 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.02.2016

73 Titular/es:

ARES TRADING S.A. (100.0%)
Zone Industrielle de l'Ouriettaz
1170 Aubonne, CH

72 Inventor/es:

RASMUSSEN, JAMES;
ZHANG, JIANXIN;
BALDWIN, SAM;
ZANELLI, ERIC;
YU, BEI;
BONNIN, DUSTAN y
JOHNSON, KEITH

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

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

ES 2 560 448 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimientos de tratamiento de enfermedades con copolímeros aleatorios

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 La presente solicitud reivindica la prioridad del documento de Solicitud Provisional de Estados Unidos con número de serie 60/569292 presentado el número 7 de mayo de 2004, y del documento de Solicitud Provisional de Estados Unidos con número de serie 60/663333 presentado el 18 de marzo del 2005.

Antecedentes de la invención

10 Una enfermedad autoinmune resulta de una respuesta inmune inapropiada dirigida frente a un antígeno propio (un autoantígeno), que es una desviación del estado normal de autotolerancia. La autotolerancia surge cuando la producción de linfocitos T y linfocitos B capaces de reaccionar frente a autoantígenos se ha evitado mediante sucesos que se producen en el desarrollo temprano del sistema inmune. Las proteínas de superficie celular que desempeña un papel principal en la regulación de las respuestas inmunes a través de su capacidad de unir y presentar péptidos procesados a los linfocitos T son las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (Rothbard, J.B., y col., 1991, Annu. Rev. Immunol. 9:527). Las enfermedades autoinmunes incluyen artritis reumatoide (RA), esclerosis múltiple (MS), diabetes mellitus humana de tipo I o insulino dependiente (IDDM), uveítis autoinmune, cirrosis biliar primaria (PBC) y enfermedad celíaca.

15 Una diana para la inhibición de la respuesta autoinmune es el conjunto de moléculas del MHC de las proteínas de superficie de los linfocitos, particularmente una proteína codificada por un gen del MHC de clase II, por ejemplo, HLA-DR, -DQ y -DP. Cada uno de los genes del MHC se encuentra en un gran número de formas alternativas o alélicas en la población de mamíferos. Lo más probable es que genomas de los sujetos afectados con ciertas enfermedades autoinmunes, por ejemplo MS y RA, porten uno o más alelos característicos del MHC de clase II, con los que esa enfermedad está relacionada.

20 Se han desarrollado cierto número de agentes terapéuticos para tratar enfermedades autoinmunes, incluyendo fármacos antiinflamatorios generales tales como inhibidores de COX-2, es decir, agentes que evitan la formación de compuestos inflamatorios de bajo peso molecular por inhibición de una ciclooxigenasa; agentes que pueden funcionar por inhibición de un mediador proteico de la información, por ejemplo, mediante el secuestro del factor de necrosis tumoral (TNF) de proteínas inflamatorias con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo monoclonal anti-TNF específico, o con una forma soluble del receptor de TNF; y agentes que fijan como diana una proteína de la superficie de un linfocito T y evitan generalmente la interacción con la célula presentadora de antígeno (APC) por inhibición del receptor de CD4 o el receptor de adhesión celular ICAM-1. Sin embargo, las composiciones que tienen proteínas plegadas naturales como agentes terapéuticos pueden encontrar problemas en la producción, formulación, almacenamiento, y suministro. Varios de estos problemas necesitan el suministro al paciente en un marco hospitalario.

25 Un agente que interactúa y se une de forma relativamente no específica a diversas moléculas del MHC de clase II es el Copolímero 1 (Cop 1), un heteropolímero de aminoácidos sintético que se ha mostrado que es capaz de suprimir encefalomiелitis alérgica experimental (EAE; Sela, M. y col., 1990, Bull. Inst. Pasteur (Paris)), que se puede inducir en ratones y es un modelo para MS. El Copolímero 1 que es poli(Y,E,A,K) también conocido como acetato de glatirámico o "YEA K" usando el código de aminoácidos de una letra (véase posteriormente; Y representa tirosina, E ácido glutámico, A alanina, y K lisina), se ha usado para tratar formas recurrentes de MS pero no suprime completamente la enfermedad (Bornstein, M.B., y col., 1987, N. Engl. J. Med. 317:408; Johnson, K.P. y col., 1995, Neurology 45:1268).

35 Aunque los copolímeros aleatorios pueden ser eficaces para el tratamiento de enfermedades autoinmunes (Simpson, D. y col., 2003, Biodrugs 17(3):207-10), su administración repetida puede causar efectos secundarios no deseados. Por lo tanto, existe la necesidad de procedimientos mejorados para el tratamiento de enfermedades autoinmunes con copolímeros aleatorios que den como resultado menos efectos secundarios.

45 El documento de Patente WO 03/029276 desvela copolímeros específicos para la supresión de enfermedades autoinmunes.

Breve resumen de la invención

La materia objeto de la invención se expone en las reivindicaciones anexas.

Breve descripción de las figuras

50 La Figura 1 muestra el efecto de la administración de copolímero en el progreso de enfermedad de EAE.

La Figura 2 muestra la tasa de supervivencia de ratones con EAE cuando se les administran copolímeros aleatorios.

La Figura 3 muestra la producción de anticuerpos IgG frente a los copolímeros administrados con dosis diarias o semanales.

La Figura 4 muestra la producción de anticuerpos IgG1 frente a los copolímeros administrados con dosis diarias o semanales.

5 La Figura 5 muestra la producción de anticuerpos IgG2b frente a los copolímeros administrados con dosis diarias o semanales.

La Figura 6 muestra los cambios en la concentración de anticuerpos frente a los copolímeros durante el curso de tiempo de un tratamiento.

10 La Figura 7 muestra la producción de anticuerpos IgG1 frente al péptido PLP en ratones a los que se administran copolímeros aleatorios.

La Figura 8 muestra la producción de anticuerpos IgG2b frente al péptido PLP en ratones a los que se administran copolímeros aleatorios.

La Figura 9 muestra la relación de IL-13 frente a IFN γ en ratones a los que se administran copolímeros aleatorios.

15 La Figura 10 muestra la compensación de la inducción de citoquinas relacionadas con TH2 en comparación con las citoquinas relacionadas con TH1 en ratones a los que se administran copolímeros aleatorios.

Descripción detallada de la invención

I. Visión de conjunto

20 En la invención, la enfermedad está mediada por linfocitos TH1. La enfermedad es una enfermedad autoinmune. En una realización, la enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (SLE), gastritis, hepatitis autoinmune, anemia hemolítica, hemofilia autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), uveorretinitis autoinmune, glomerulonefritis, síndrome de Guillain-Barré, psoriasis, miastenia gravis, encefalomiелitis autoinmune, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, pénfigo paraneoplásico, púrpura trombocitopénica autoinmune, esclerodermia con anticuerpos anti-colágeno, enfermedad mixta del tejido conectivo, anemia perniciosa, polimiositis, enfermedad de Addison idiopática, infertilidad asociada con autoinmunidad, glomerulonefritis, penfigoide ampolloso, síndrome de Sjogren, mixedema idiopático y colitis. En realizaciones preferentes, la enfermedad es esclerosis múltiple o esclerosis múltiple recidivante-recurrente. En realizaciones preferentes de la invención, el sujeto es un mamífero, o más preferentemente un ser humano.

30 En la invención, el régimen de dosificación comprende administración subcutánea. El copolímero aleatorio también se puede administrar a través de dispositivos diseñados para suministrar el copolímero aleatorio de forma continua, tales como un parche o bomba o implante transdérmico. Por ejemplo, se puede usar un parche transdérmico para administrar el copolímero aleatorio durante un período de 12 horas cada 48 horas o más. En un aspecto relacionado, el copolímero se administra en una formulación de liberación sostenida.

35 En realizaciones preferentes, la formulación de liberación sostenida administra el copolímero durante un periodo de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días. En otra realización, la dosificación total suministrada diariamente por la formulación de liberación sostenida es menos de un 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 % o un 5 % de una dosificación diaria conocida por ser eficaz en el tratamiento de la enfermedad. En una realización específica, la formulación de liberación sostenida administra un 25 % o menos, por día, de una dosificación de un copolímero aleatorio que se conoce que es eficaz en el tratamiento de la enfermedad cuando se administra diariamente.

45 En algunas realizaciones de la invención descritas en el presente documento, el uso comprende además administrar un agente terapéuticamente activo al sujeto, tal como un agente antiinflamatorio. En realizaciones preferentes, el agente es útil en el tratamiento de la enfermedad. En otra realización preferente, el agente sinergiza con el copolímero aleatorio para tratar la enfermedad.

En la invención descrita del presente documento, el régimen de dosificación comprende administrar el copolímero aleatorio al sujeto múltiples veces, con un intervalo de tiempo entre cada administración. El intervalo de tiempo entre cada administración es al menos 7 días.

50 En algunas realizaciones de la invención descrita en el presente documento, la cantidad eficaz del copolímero aleatorio está entre 0,02 mg por dosis y 2000 mg por dosis, o más preferentemente entre 2 mg por dosis y 200 mg por dosis.

II. Definiciones

Por conveniencia, aquí se recogen ciertos términos empleados en la memoria descriptiva, los ejemplos, y las reivindicaciones anexas. A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se usan en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente el experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención.

Los artículos "un", "uno" y "una" se usan en el presente documento para referirse a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

El término "incluir" se usa en el presente documento para referirse a, y se usa de forma intercambiable con, la expresión "que incluye pero no se limita" a.

El término "o" se usa en el presente documento para referirse a, y se usa de forma intercambiable con, el término "y/o", a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

La expresión "tal como" se usa en el presente documento para referirse a, y se usa de forma intercambiable con, la expresión "tal como pero no limitado a".

Un "paciente" o "sujeto" que se va a tratar mediante el procedimiento de la invención puede referirse a un animal humano o no humano, preferentemente un mamífero.

La expresión "afección autoinmune" o "enfermedad autoinmune" se refiere a una patología causada por una respuesta inmune inapropiada que se dirige a una entidad autocodificada que se conoce como un autoantígeno. Los compuestos de copolímero proporcionados en el presente documento se pueden usar para tratar síntomas de una enfermedad autoinmune, una clase de trastorno que incluye tiroiditis de Hashimoto; mixedema idiopático, un hipotiroidismo grave; esclerosis múltiple, una enfermedad desmielinizante marcada por parches o tejido endurecido en el cerebro o la médula espinal; miastenia gravis que es una enfermedad que produce el debilitamiento progresivo de los músculos causado por el ataque autoinmune sobre los receptores de acetilcolina en las uniones neuromusculares; síndrome de Guillain-Barre, una polineuritis; lupus eritematoso sistémico; uveítis; ooforitis autoinmune; púrpura trombocitopénica inmune crónica; colitis; diabetes; enfermedad de Graves, que es una forma de hipotiroidismo; psoriasis; pénfigo vulgar; y artritis reumatoide (RA).

La expresión "afección desmielinizante" incluye una patología en la que una parte de la vaina de mielina, que consiste en una membrana plasmática envuelta alrededor de la parte alargada de la célula del nervio, se retira mediante degradación. Una afección desmielinizante puede surgir después de la vacunación, después del tratamiento anti TNF, después de la infección vírica, y en la MS.

La expresión "derivado" de un aminoácido se refiere a una forma químicamente relacionada de ese aminoácido que tiene un sustituyente adicional, por ejemplo, grupo N-carboxianhídrido, un grupo γ -bencilo, un grupo ϵ -N-trifluoroacetilo, o un grupo haluro unido a un átomo del aminoácido.

El término "análogo" se refiere a una forma químicamente relacionada de ese aminoácido que tiene una configuración diferente, por ejemplo, un isómero, o una configuración D en lugar de una configuración L, o una molécula orgánica con el tamaño, carga y forma del aminoácido apropiados, o un aminoácido con modificación con respecto a los átomos que están implicados en el enlace peptídico, de modo que el copolímero que tiene el resto análogo es más resistente a proteasas que un copolímero de otro modo similar que carece de tal análogo, tanto si el análogo es interior como si se sitúa en un extremo del copolímero, en comparación con el copolímero sin el análogo.

Las expresiones "aminoácido" y "copolímero de aminoácido" pueden incluir uno o más componentes que son derivados de aminoácido y/o análogos de aminoácido como se define en el presente documento, comprendiendo el derivado o análogo parte o la totalidad de los restos para uno cualquiera o más de los 20 aminoácidos de origen natural indicados mediante esa composición. Por ejemplo, en una composición de copolímero de aminoácido que tiene uno o más restos de tirosina, una parte de uno o más de esos restos se puede sustituir con homotirosina. Además, un copolímero de aminoácido que tiene uno o más enlaces no peptídicos o peptidomiméticos entre dos restos adyacentes se incluye dentro de esta definición.

El término aminoácido "hidrófobo" se refiere a los aminoácidos alifáticos alanina (A, o ala), glicina (G, o gly), isoleucina (I, o ile), leucina (L, o leu), metionina (M, o met), prolina (P, o pro), y valina (V, o val), siendo los términos entre paréntesis las abreviaturas de código convencional de una letra y de tres letras para cada aminoácido, y los aminoácidos aromáticos triptófano (W, o trp), fenilalanina (F, o phe), y tirosina (Y, o tyr). Estos aminoácidos proporcionan hidrofobia como una función de la longitud de característica alifática y de tamaño de cadenas laterales aromáticas, cuando se encuentran como restos dentro de un copolímero u otro polipéptido.

El término aminoácido "cargado" se refiere a los aminoácidos ácido aspártico (D o asp), ácido glutámico (E o glu), arginina (R o arg) y lisina (K o lys), que proporcionan una carga positiva (lys, y arg) o negativa (asp, glu) a valores de pH fisiológico en una solución acuosa de un copolímero u otra composición de aminoácido que contiene uno o más

restos de estos aminoácidos. La histidina (H o his) es hidrófoba a pH 7, y tiene carga a pH 6.

Los términos "trastornos" y "enfermedades" se usan de forma inclusiva y se refieren a cualquier desviación de la estructura o función normal de cualquier parte, órgano o sistema del organismo (o cualquier combinación de los mismos). Una enfermedad específica se manifiesta con síntomas y signos característicos, incluyendo cambios biológicos, químicos y físicos, y a menudo se asocia con una diversidad de otros factores que incluyen, pero no se limitan a, factores demográficos, ambientales, empleo, genéticos y médicamente históricos. Ciertos signos, síntomas, y factores relacionados característicos se pueden cuantificar a través de una diversidad de procedimientos para proporcionar una información de diagnóstico importante.

El término tratamiento "profiláctico" o "terapéutico" se refiere a la administración al sujeto de una o más de las composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otra patología no deseada del animal hospedador) entonces el tratamiento profiláctico, es decir, este contribuye a la protección del hospedador frente al desarrollo de la afección no deseada, mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, este pretende disminuir, mejorar o prevenir la evolución de la afección o efectos secundarios no deseados de la misma).

La expresión "efecto terapéutico" se refiere a un efecto local o sistémico en animales, en particular mamíferos, y más en particular seres humanos, causado por una sustancia farmacológicamente activa. Por lo tanto, la expresión hace referencia a cualquier sustancia destinada a su uso en el diagnóstico, cura, alivio, tratamiento o prevención de la enfermedad o en la potenciación del desarrollo deseable físico o mental y afecciones en un animal o ser humano. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de tal sustancia que produce algún efecto local o sistémico deseado con una proporción razonable de beneficio/riesgo que se puede aplicar a cualquier tratamiento. En ciertas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto dependerá de su índice terapéutico, solubilidad, y similares. Por ejemplo, ciertos compuestos descubiertos con los procedimientos de la presente invención se pueden administrar en una cantidad suficiente para producir una proporción razonable de beneficio/riesgo que se puede aplicar a tal tratamiento.

La expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un reactivo terapéutico que, cuando se administra a un sujeto mediante una dosis y régimen apropiados, produce el resultado deseado.

La expresión "sujeto con necesidad de tratamiento para un trastorno" es un sujeto diagnosticado con ese trastorno, que probablemente va a desarrollar el trastorno, o del que se sospecha que tiene ese trastorno.

El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento pretende incluir anticuerpos completos, por ejemplo, de cualquier isotipo (IgG, IgA, IgM, IgE, etc.), e incluye fragmentos de los mismos que también son específicamente reactivos con una proteína de vertebrado, por ejemplo, de mamífero. Algunos anticuerpos se pueden fragmentar usando técnicas convencionales y los fragmentos se pueden identificar sistemáticamente para utilidad y/o interacción con un epítipo específico de interés. Por lo tanto, el término incluye segmentos de partes de una molécula de anticuerpo escindidas de forma proteolítica o preparadas de forma recombinante que son capaces de reaccionar de forma selectiva con una cierta proteína. Algunos ejemplos no limitantes de tales fragmentos proteliticos y/o recombinantes incluyen Fab, F(ab')₂, Fab', Fv, y anticuerpos de una sola cadena (scFv) que contienen un dominio V[L] y/o V[H] unido mediante un engarce peptídico. Los scFv se pueden unir de forma covalente o no covalente para formar anticuerpos que tienen dos o más sitios de unión. El término anticuerpo también incluye policlona, monoclonal, u otras preparaciones purificadas de anticuerpos y anticuerpos recombinantes.

La expresión "tolerancia central" se refiere a tolerancia hacia un antígeno controlado por los sucesos en el timo, es decir, la supresión clonal de linfocitos T reactivos al antígeno en la glándula timo. Los linfocitos T parcialmente activados con receptores de alta afinidad hacia el antígeno experimentan selección negativa y supresión clonal en el timo mediante apoptosis mediada por Fas, desencadenada por la coexpresión y unión de FasL a Fas en la superficie celular. Por el contrario, la expresión "tolerancia periférica" se refiere a supresión de los linfocitos T mediante la muerte celular inducida por activación (AICD) y silenciamiento funcional (anergia clonal) de linfocitos T sin supresión clonal en el bazo. Además, cuando carecen de la cooperación de los linfocitos T auxiliares, los linfocitos B son supuestamente "incapaces" de responder a los antígenos dependientes de los linfocitos T. La modulación de la tolerancia central y periférica se regula mediante la fosforilación de p56^{lck} y ZAP-70. El estado y el grado de fosforilación de los restos fundamentales de estas proteínas dan como resultado la regulación positiva o negativa de las moléculas de señalización que influyen en la tolerancia periférica y central. La inhibición de la señalización de receptores de linfocitos T también desempeña un papel en la inducción de la tolerancia.

Otros términos técnicos usados en el presente documento tienen su significado habitual en la técnica en la que se usan, como se observa a modo de ejemplo mediante una diversidad de diccionarios técnicos.

III. Copolímeros Aleatorios

La composición de un copolímero aleatorio para uso en la presente invención comprende las características de una recopilación de una multiplicidad de epítopos de linfocitos T de reacción cruzada. La composición de un copolímero aleatorio de la presente invención puede comprender adicionalmente las características de ligandos peptídicos

alterados. Existen múltiples consecuencias funcionales de la composición de un copolímero aleatorio de la presente invención: una es el potencial de interactuar funcionalmente con miles, preferentemente cientos de miles, más preferentemente millones, de epítomos de linfocitos T mediante la presentación con moléculas de MHC, preferentemente moléculas de clase II de MHC, mientras que otra es la generación de linfocitos T específicos de copolímero aleatorio que pueden secretar mediadores solubles, tales como citoquinas.

A un copolímero aleatorio para uso en la presente invención se le pueden proporcionar características específicas de secuencia de aminoácidos de modo que el subgrupo de aminoácidos seleccionado interactúa preferentemente con epítomos de linfocitos T específicos, algunos de los cuales se pueden asociar directamente con trastornos patogénicos.

Copolímeros que comprenden cuatro aminoácidos

En la invención, el copolímero aleatorio consiste en restos de aminoácidos YFAK (L-tirosina, L-fenilalanina, L-alanina y L-lisina) en una proporción de rendimiento molar de aproximadamente 1,0:1,2: X_A :6,0 respectivamente, en la que X_A es superior a 20,0 e inferior a 30,0, y la variabilidad de las proporciones de rendimiento comprende un intervalo de aproximadamente un 10 % entre los diferentes aminoácidos. Las proporciones de rendimiento molar de YFAK de copolímeros aleatorios de las realizaciones preferentes se muestran en la Tabla I que sigue a continuación:

Tabla I: Proporciones de Composición de Aminoácidos de Copolímeros Aleatorios

Y	F	A	K
1,0:	1,2:	20,0:	6,0
1,0:	1,2:	22,0:	6,0
1,0:	1,2:	24,0:	6,0

La longitud de cualquiera de tal copolímero es de entre 35 y 75 restos de aminoácidos. Más preferentemente, la longitud de un copolímero aleatorio es de entre 35 y 65 restos de aminoácidos. En una realización preferente, la longitud de un copolímero aleatorio es de aproximadamente 50 aminoácidos. En otra realización preferente, la longitud de un copolímero aleatorio es de aproximadamente 52 aminoácidos.

En una realización preferente, la proporción de rendimiento molar media de YFAK es aproximadamente 1,0: 1,2: X_A :6,0, en la que X_A es superior a 20, y la proporción de alanina aumenta con la longitud del copolímero. En una realización preferente, la longitud de tal copolímero aleatorio es de aproximadamente 52 restos de aminoácidos, y la proporción de la composición de alanina en las posiciones 31-52 del aminoácido es mayor que en las posiciones 11-30 del aminoácido, y la proporción de la composición de alanina en las posiciones 11-30 del aminoácido es mayor que en las posiciones 1-10 del aminoácido.

Copolímeros que se unen a proteínas de clase II de MHC

En una realización, los copolímeros usados en la invención que se describe en el presente documento son capaces de unirse a una proteína de clase II de MHC que se asocia con una enfermedad autoinmune. Existen al menos tres tipos de moléculas de MHC de Clase II: moléculas HLA-DR, HLA-DQ, y HLA-DP. También existen numerosos alelos que codifican cada tipo de estas moléculas de HLA. Las moléculas de MHC de Clase II se expresan de forma predominante en la superficie de linfocitos B y células que presentan antígenos tales como macrófagos. Para determinar si el copolímero se une a una o más proteínas de clase II de MHC se puede usar cualquier procedimiento disponible. Por ejemplo, el polipéptido se puede marcar con una molécula indicadora (tal como un radionucleido o biotina), mezclado con una preparación en bruto o pura de proteína de clase II de MHC y la unión se detecta si la molécula indicadora se adhiere a la proteína de clase II de MHC después de la retirada del polipéptido sin unir.

En otra realización, los copolímeros usados en la invención que se describe en el presente documento son capaces de unirse a una proteína de clase II de MHC asociada con la esclerosis múltiple. Un polipéptido de esta realización puede tener una afinidad similar o mayor con respecto al surco de unión al antígeno de una proteína de clase II de MHC asociada con la esclerosis múltiple con respecto a la del Copolímero 1. Por lo tanto, el polipéptido contemplado puede inhibir la unión o desplazar la unión de autoantígenos de mielina de la proteína de clase II de MHC. Una proteína de clase II de MHC asociada con la esclerosis múltiple es HLA-DR4 (DRB1*1501).

En otra realización, los copolímeros aleatorios usados en la invención que se describe en el presente documento son capaces de unirse a una proteína de clase II de MHC asociada con una afección artrítica, por ejemplo, artritis reumatoide u osteoartritis. Un copolímero aleatorio de la esta realización puede tener una afinidad mayor hacia el surco de unión al antígeno de una proteína de clase II de MHC asociada con la enfermedad autoinmune con respecto a la del péptido 261-273 de colágeno de tipo II. Por lo tanto, el copolímero aleatorio contemplado que se describe en el presente documento puede inhibir la unión o desplazar el péptido 261-273 de colágeno de tipo II del surco de unión al antígeno de una proteína de clase II de MHC. La proteína de MHC de Clase II consiste en subunidades alfa y beta con un tamaño aproximadamente igual, ambas de las cuales son proteínas transmembrana.

Con las partes de los extremos amino de las subunidades tanto α como β se forma una hendidura de unión al péptido. Esta hendidura de unión al péptido es el sitio de presentación del antígeno a los linfocitos T.

5 En otras realizaciones, los copolímeros aleatorios usados en la invención se pueden unir al surco de unión al péptido de las moléculas HLA-DR. Dado que se conocen motivos de unión de moléculas HLA-DR asociadas con Cop 1 a MS (Fridkis-Hareli y col., 1999, J. Immunol.; 162 (8): 4697-704), se pueden preparar fácilmente polipéptidos de secuencia fija y someter a ensayo para la unión al surco de unión al péptido de las moléculas HLA-DR como se describe en Fridkis-Hareli. Algunos ejemplos de tales péptidos son los que se desvelan en el documento WO 00/005249. Los que siguen a continuación son treinta y dos de los péptidos que se desvelan de forma específica en dicha solicitud:

AAAYAAAAAAKAAAA; AEKYAAAAAAKAAAA; AKEYAAAAAAKAAAA;
 AKKYAAAAAAKAAAA; AEAYAAAAAAKAAAA; KEAYAAAAAAKAAAA;
 AEFYAAAAAAKAAAA; AAEYAAAAAAKAAAA; EKAYAAAAAAKAAAA;
 AAKYEAAAAAAKAAAA AAKYAEAAAAKAAAA; EAYYAAAAAAKAAAA;
 EKKYAAAAAAKAAAA; EAKYAAAAAAKAAAA; AEKYAAAAAAKAAAA;
 AKEYAAAAAAKAAAA; AKKYEAAAAAAKAAAA; AKKYAEAAAAKAAAA;
 AEAYKAAAAAAKAAAA; KEAYAAAAAAKAAAA; AEEYKAAAAAAKAAAA;
 AAEYKAAAAAAKAAAA; EKAYAAAAAAKAAAA; AAKYEAAAAAAKAAAA;
 AAKYAEAAAAAAKAAAA; EKKYAAAAAAKAAAA; EAKYAAAAAAKAAAA;
 AEYKAAAAAAKAAAA; AEKAYAAAAAAKAAAA; EKYAAAAAAKAAAA;
 10 AYKAEAAAAAAKAAAA; AKYAEAAAAAAKAAAA.

15 En la bibliografía se pueden encontrar copolímeros aleatorios adicionales para uso en la presente invención, y procedimientos para sintetizarlos, tal como en Shukaliak Quandt, J. y col., 2004, Mol. Immunol. 40 (14-15): 1075-87; Montaudo, M.S., 2004, J. Am. Soc. Mass Spectrom. 15 (3): 374-84; Takeda, N. y col., 2004, J Control Release 95 (2): 343-55; Pollino, J.M. y col., 2004, J. Am. Chem. Soc. 126 (2): 563-7; Fridkis-Hareli, M. y col., 2002, J. Clin Invest. 109 (12): 1635-43; Williams, D.M. y col., 2000, J. Biol. Chem. 275 (49): 38127-30; Tselios, T. y col., 2000, Bioorg. Med Chem. 8 (8): 1903-9; y Cady, C.T. y col., 2000, J Immunol. 165 (4): 1790-8.

En ciertas realizaciones preferentes, los copolímeros de la invención se unen a moléculas HLA-DQA1, e incluso de manera más preferente a una o más moléculas HLA codificadas en los alelos DQA1*0501-DQB1*0201, DQA1*0301, DQB1*0401, y DQA1*03-DQB1*0302.

20 En otras realizaciones, los copolímeros de la presente invención se unen a ciertas moléculas HLA-DQ que predisponen al vehículo de tales moléculas a enfermedades asociadas con la autoinmunidad, tales como diabetes del tipo I y enfermedad celíaca, con una constante de disociación (K_d) al menos 10 veces menor que la K_d del copolímero para unión a moléculas HLA-DR y/u otros isotipos de DQ. Tales moléculas HLA-DQ son los productos de proteínas combinadas de los alelos HLA-DQB1 y DQA1 específicos conocidos como DQB1*0201, DQB1*0302, DQB1*0304, DQB1*0401, DQB1*0501, DQB1*0502; y DQA1*0301, DQA1*0302, DQA1*0303, DQA1*0501. Estos alelos se pueden codificar en los mismos haplotipos (alelos "cis") tal como DQB 1*0201-DQA1*0501-DRB1*0301 y DQB1*0302-DQA1*0301-DRB1*0401. En el presente documento la molécula HLA resultante que comprende productos polipeptídicos de alelos "cis" se denomina "dímero cis". Como alternativa, los alelos se pueden codificar en diferentes haplotipos (alelos "trans"). En el presente documento la molécula HLA que comprende productos polipeptídicos de alelos "trans" se denomina dímero "trans". Un ejemplo de alelos "trans" es la combinación de DQB1*0201 en DQB1*0201-DQA1*0501-DRB1*0301 y DQA1*0301 en DQB1*0301-DQA1*0301-DRB1*0404.

35 En realizaciones preferentes, las composiciones de copolímeros de la presente invención se unen a uno o más de los isotipos DQ con una K_d media de 1 μ M o inferior, y más preferentemente una K_d media inferior a 100 nM, 10 nM o incluso 1 nM. Otra forma de identificar copolímeros preferentes se basa en la medida de un copolímero para desplazar a otro en ensayos de unión competitiva, tal como se describe en Sidney y col., 2002, J. Immunol. 169: 5098, que se expresa como un valor de CI_{50} . Los copolímeros preferentes de la presente invención tienen CI_{50} inferiores a 1 μ M, más preferentemente inferiores a 500 nM, e incluso más inferiores a 100 nM.

En ciertas realizaciones preferentes, el copolímero se forma mediante síntesis aleatoria (polimerización) de los diversos restos de aminoácido.

Cuando se sintetizan, una preparación habitual de copolímeros aleatorios es una mezcla de péptidos de diversas longitudes, la mayoría de los cuales tienen la longitud deseada pero contienen péptidos más cortos o más largos creados de forma inevitable con los procedimientos de síntesis disponibles en la actualidad.

- 5 En ciertas realizaciones preferentes, los copolímeros objeto se formulan para uso como un medicamento con el fin de que tengan una capacidad de polidispersión inferior a 25.000, y más preferentemente inferior a 10000, 5000, 1000, 500, 100, 50, o incluso inferior a 10.

Síntesis de copolímeros aleatorios

Los copolímeros aleatorios usados en la presente invención se pueden fabricar mediante cualquier procedimiento disponible para un experto en la materia.

- 10 Para los fines de la presente solicitud, las expresiones "temperatura ambiental" y "temperatura ambiente" se refieren a una temperatura que varía de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 26 °C.

- 15 Un procedimiento de síntesis preferente de los copolímeros aleatorios de la presente invención es mediante síntesis en fase sólida. La síntesis se realiza en múltiples etapas mediante el enfoque de Síntesis de Péptidos en Fase Sólida (SPPS) usando aminoácidos protegidos con Fmoc. La SPPS se basa en la adición secuencial de derivados de aminoácidos protegidos, con protección de la cadena lateral cuando sea apropiado, a un soporte polimérico (perla). El grupo Fmoc inestable en base se usa para protección de N. después de la retirada del grupo protector (mediante hidrólisis de piperidina), se añade la siguiente mezcla de aminoácidos usando un reactivo de acoplamiento (TBTU). Después de acoplar el aminoácido final, el extremo N-terminal se acetila.

- 20 El péptido resultante (unido al soporte polimérico a través de su extremo C-terminal) se extingue con TFA para proporcionar el péptido en bruto. Durante esta etapa de escisión, todos los grupos protectores de las cadenas laterales también se escinden. Después de precipitación con éter diisopropílico, el sólido se filtra y se seca. El péptido resultante se analiza y se almacena a 2-8 °C.

Ejemplo de síntesis en fase sólida

- 25 El copolímero aleatorio, YFAK, que consiste en L-alanina, L-lisina, L-fenilalanina y L-tirosina se prepara en su forma protegida sobre resina de Wang. Algunas resinas usadas fueron Fmoc-L-Tyr(t-Bu)-Wang (0,62 mmol/g), Fmoc-L-Phe-Wang (0,72 mmol/g), Fmoc-L-Ala-Wang (0,70 mmol/g), y Fmoc-L-Lys(Boc)-Wang (0,72 mmol/g). Los cuatro aminoácidos protegidos con F-moc, Fmoc-L-Tyr(t-Bu)-OH, Fmoc-L-Phe-OH, Fmoc-L-Ala-OH, y Fmoc-L-Lys-OH, se usan en una proporción de aportación molar de 1:1:10:6 respectivamente durante cada etapa de acoplamiento. Otros reactivos usados en la síntesis son 2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, tetrafluoroborato (TBTU),
- 30 N,N-diisopropiletilamina (DIPEA), piperidina, y ácido trifluoroacético (TFA). Los disolventes usados son N-metilpirrolidona (NMP), isopropanol (IsOH, IPA, i-PrOH), cloruro de metileno, y éter isopropílico. La estequiometría de cada acoplamiento es la que sigue a continuación:

- restos 1 a 10 usando 2 equivalentes de aminoácidos protegidos con Fmoc;
- restos 11 a 30 usando 2 equivalentes con doble acoplamiento de aminoácidos protegidos con Fmoc;
- 35 • restos 31 a 52 usando 2,5 equivalentes de aminoácidos protegidos con Fmoc con doble acoplamiento.

Un ejemplo de proporciones de aportación de aminoácidos en un ejemplo representativo de síntesis de YFAK con contenidos de alanina progresivamente más elevados es el que sigue a continuación:

Posiciones	Y	F	A	K
0-10	3,7	5,5	64,4	26,4
11-20	4,3	5,1	71,4	19,2
21-30	4,0	4,7	71,5	19,8
31-40	3,6	4,7	74,3	17,4
41-52	3,0	4,1	76,0	16,8

Polipéptidos no naturales y modificación química de copolímeros

- 40 El peso molecular de un copolímero aleatorio se puede ajustar durante la síntesis del polipéptido o después de haber sintetizado el copolímero. Para ajustar el peso molecular durante la síntesis del polipéptido, las condiciones de síntesis o las cantidades de aminoácidos se ajustan de modo que la síntesis se detiene cuando el polipéptido alcanza la longitud aproximada que se desea. Después de la síntesis, se pueden obtener los polipéptidos con el peso molecular deseado mediante cualquier procedimiento de selección de tamaño disponible, tal como

cromatografía de los polipéptidos en una columna o gel de dimensionamiento de peso molecular, y recogida de los intervalos deseados de peso molecular. Los presentes polipéptidos también se pueden hidrolizar parcialmente para retirar las especies de peso molecular elevado, por ejemplo, mediante hidrólisis en ácido o enzimática, y a continuación se pueden purificar para retirar el ácido o enzimas.

5 En una realización, los copolímeros aleatorios con un peso molecular deseado se pueden preparar mediante un procedimiento que incluye hacer reaccionar un polipéptido protegido con ácido bromhídrico para formar polipéptido de a trifluoroacetilo que tiene el perfil de peso molecular deseado. La reacción se realiza durante un tiempo y a una temperatura que se determina previamente con una o más reacciones de ensayo. Durante la reacción de ensayo, el tiempo y la temperatura varían y se determina el intervalo de peso molecular de un lote dado de los polipéptidos de ensayo. Para el lote se usan las condiciones del ensayo que proporcionan el intervalo de peso molecular óptimo para ese lote de polipéptidos. Por lo tanto, se puede producir un polipéptido de trifluoroacetilo que tiene el perfil de peso molecular deseado mediante un procedimiento que incluye hacer reaccionar el polipéptido protegido con ácido bromhídrico durante un tiempo y a una temperatura determinada previamente con la reacción de ensayo. El polipéptido de trifluoroacetilo con el perfil de peso molecular deseado se trata a continuación con una solución acuosa de piperidina para formar un polipéptido de toxicidad baja que tiene el peso molecular deseado.

En una realización preferente, una muestra de ensayo de polipéptido protegido a partir de un lote dado se hace reaccionar con ácido bromhídrico durante aproximadamente 10-50 horas a una temperatura de aproximadamente 20-28 °C. Las mejores condiciones para ese lote se determinan realizando varias reacciones de ensayo. Por ejemplo, en una realización, el polipéptido protegido se hace reaccionar con ácido bromhídrico durante aproximadamente 17 horas a una temperatura de aproximadamente 26 °C.

Los documentos de Publicación de PCT Internacional con números WO 00/05250, WO 00/05249; WO 02/59143, WO 0027417, WO 96/32119, los documentos de Publicación de Patente de Estados Unidos con números 2004/003888, 2002/005546, 2003/0004099, 2003/0064915 y 2002/0037848, los documentos de patente de Estados Unidos con números 6.514.938, 5.800.808 y 5.858.964, y el documento de solicitud de PCT, PCT/US05/06822, describen adicionalmente procedimientos para sintetizar copolímeros aleatorios, composiciones que comprenden copolímeros aleatorios, formulaciones terapéuticas de copolímeros aleatorios, procedimientos para administrar copolímeros aleatorios a un sujeto, enfermedades que se pueden tratar con copolímeros aleatorios, y agentes terapéuticamente eficaces adicionales que se pueden coadministrar a un sujeto con los copolímeros aleatorios.

Es evidente que esto se proporciona solamente a modo de ejemplo, y que las composiciones se pueden variar tanto con respecto a los componentes como las proporciones relativas de los componentes si los criterios generales mencionados anteriormente se adhieren a esto.

IV. Enfermedades

La invención proporciona composiciones para tratar o prevenir enfermedades en un sujeto. Un sujeto que está en riesgo de desarrollar una enfermedad, que se sospecha que está afectado con una enfermedad, o que está afectado con la enfermedad se puede tratar usando las composiciones proporcionadas por la invención.

La enfermedad que se puede tratar con las composiciones para uso de la presente invención comprende una enfermedad que está mediada con linfocitos T_H1.

La enfermedad que se puede tratar con las composiciones para uso de la presente invención comprende enfermedades autoinmunes. Algunas enfermedades autoinmunes contempladas en la presente invención incluyen enfermedad mediada por células (por ejemplo, linfocitos T). Tales trastornos pueden ser, entre otros, afecciones artríticas, enfermedades desmielinizantes y enfermedades inflamatorias. Las composiciones de la invención tienen un interés en particular para el tratamiento de enfermedades inflamatorias desmielinizantes, que incluyen esclerosis múltiple, EAE, neuritis óptica, mielitis transversa aguda, y encefalitis diseminada aguda. En una realización específica, cualquier enfermedad autoinmune se puede tratar con los presentes polipéptidos siempre y cuando el polipéptido contemplados se una a una proteína de clase II de MHC que se ha asociado con la enfermedad autoinmune. La evolución de la enfermedad se puede medir mediante el control de los síntomas clínicos o de diagnóstico usando procedimientos conocidos.

En una realización, la enfermedad tratada con los procedimientos que se proporcionan en el presente documento es una "afección artrítica". Como se usa en el presente documento, una afección artrítica es una afección en la que se observa al menos un síntoma de artritis reumatoide en al menos una articulación de un mamífero, por ejemplo en un hombro, rodilla, cadera, columna vertebral o un dedo del mamífero. La RA es una enfermedad autoinmune humana común con una prevalencia de aproximadamente un 1 % entre las personas de raza blanca (Harris, B. J. y col., 1997, En Textbook of Rheumatology 898-932), que en la actualidad afecta a 2,5 millones de americanos. La RA se caracteriza por inflamación crónica de las articulaciones sinoviales e infiltración mediante linfocitos T activados, macrófagos y células plasmáticas, que conducía una destrucción progresiva del cartílago articular. Es la forma más grave de enfermedad articular. La susceptibilidad heredada a la RA está fuertemente asociada con el sujeto afectado que tiene en el sitio DRB1 de clase II de MHC el alelo DRB 1*0401, DRB 1*0404, o DRB1*0405 o el alelo DRB1*0101. La naturaleza del autoantígeno(s) en RA no se entiende bien, aunque el tipo II del colágeno (CII) es un

candidato importante. Se ha identificado un epítipo inmunodominante de linfocitos T en el tipo II del colágeno que corresponde a los restos 261-273 (Fugger, L. y col., 1996, Eur. J Immunol. 26: 928-933).

5 Otros ejemplos de afecciones artríticas incluyendo "poliartritis", que es una afección artrítica que afecta a más de una sola articulación; "artritis juvenil", una afección artrítica de seres humanos con edad inferior a 21; y el síndrome de Felty, que puede incluir los síntomas de neutropenia, esplenomegalia, pérdida de peso, anemia, linfadenopatía, y manchas de pigmento en la piel.

10 En otra realización, la enfermedad tratada con las composiciones proporcionadas en el presente documento es la esclerosis múltiple (MS). El transcurso de la enfermedad para la esclerosis múltiple es altamente variado, impredecible, y, en la mayoría de los pacientes, remitente. La evidencia patológica de la MS es una inflamación y desmielinización multifásica del SNC, multicéntrica. En particular al inicio de la enfermedad, los episodios pueden estar separados por meses o años de remisión. Aproximadamente un 70 % de los pacientes de tipo recidivante-recurrente (RR), que se caracteriza por exacerbaciones agudas con remisiones completas o parciales. El resto de los pacientes presentan MS progresiva crónica, que se subdivide adicionalmente en (a) progresiva primaria (PP), (b) progresiva recidivante (RP), que es un patrón que combina características de RR y RP y tiene una gravedad clínica intermedia, y (c) progresiva secundaria (SP), que tiene muchos pacientes con evolución de RR a lo largo del tiempo. En una realización preferente específica, la enfermedad tratada con el presente procedimiento es la esclerosis múltiple recidivante-recurrente.

20 Algunos síntomas clínicos de la MS incluyen pérdida sensorial (parestias), síntomas motores (calambres musculares después de espasticidad) y autonómicos (disfunción de vejiga, intestino, sexual) de la médula espinal; síntomas cerebelares (por ejemplo, tríada de Charcot de nistagmo, ataxia, temblor); fatiga y mareo; alteración en el procesamiento de la información en ensayos neuropsicológicos; síntomas oculares, que incluye diplopía en la visión lateral; neuralgia del trigémino; y neuritis óptica.

25 El autoantígeno más probable en la MS es una de varias proteínas de mielina (por ejemplo, proteína proteolípídica (PLP); glicoproteína oligodendrocítica de mielina (MOG); proteína básica de mielina (MBP); glicoproteína asociada con mielina (MAG), proteína básica oligodendrocítica asociada con mielina (MBOP); MBP modificada por citrulina (la isoforma C8 de MBP en la que se han desaminado 6 argininas en citrulina), fosfodiesterasa de nucleótido cíclico (CNPasa), alfa-B cristalina, etc.). La proteína de membrana integral, PLP, es un autoantígeno dominante de la mielina. Las células de la microglía y los macrófagos funcionan de forma conjunta como células que presentan antígenos, dando como resultado la activación de citoquinas, complementos, y otros gobernadores del proceso inflamatorio, dirigiéndose a células específicas de la oligodendroglía y su mielina de membrana. Un aumento cuantitativo de los linfocitos T_{H1} autorreactivos para mielina con la capacidad para secretar IFN- γ se asocia con la patogénesis de MS y EAE, lo que sugiere que los linfocitos T inductores/auxiliares autoinmunes en la sangre periférica de los pacientes con MS pueden iniciar y/o regular el procedimiento de desmielinización en pacientes con MS. Por otro lado, existe una bibliografía extendida sobre el papel protector de los linfocitos TH2 que producen citoquinas antiinflamatorias tales como IL-4 e IL-10. Se espera que el desplazamiento del equilibrio del tipo de linfocitos T_{H1} a T_{H2} sea beneficioso para la prevención y tratamiento de MS y EAE.

40 En otra realización, la enfermedad tratada con la invención que se proporciona en el presente documento es la Diabetes Mellitus Dependiente de Insulina. La diabetes mellitus humana de tipo I o dependiente de insulina (IDDM) se caracteriza por destrucción autoinmune de las células en los islotes de Langerhans pancreáticos. La supresión de linfocitos β da como resultado la incapacidad de regular los niveles de glucosa en la sangre. La diabetes manifiesta se produce cuando el nivel de glucosa en la sangre se eleva por encima de un nivel específico, normalmente de aproximadamente 250 mg/dl. En los seres humanos, un periodo presintomático largo precedía al inicio de la diabetes. Durante este periodo, se produce una pérdida gradual de la función de los linfocitos beta pancreáticos. El desarrollo de la enfermedad está implicado con la presencia de autoanticuerpos frente a insulina, ácido glutámico descarboxilasa, y la tirosina fosfatasa IA2 (IA2), cada uno de los cuales son un ejemplo de autoproteína, -polipéptido o -péptido de acuerdo con la presente invención. En la actualidad la IDDM humana se trata controlando los niveles de glucosa en sangre para guiar la inyección, o administración basada en bomba, de la insulina recombinante. Los regímenes de dieta y ejercicio contribuyen a conseguir un control adecuado de la glucosa en sangre.

50 Los marcadores que se pueden evaluar durante el estadio presintomático son la presencia de insulitis en el páncreas, el nivel y frecuencia de anticuerpos en células de los islotes, anticuerpos en la superficie de las células de los islotes, expresión anómala de las moléculas de MHC de Clase II en linfocitos beta pancreáticos, concentración de glucosa en la sangre, y la concentración de insulina en plasma. Un aumento del número de linfocitos T en el páncreas, anticuerpos en células de los islotes y glucosa en sangre es indicativo de la enfermedad, como es una disminución de la concentración de insulina.

55 La presencia de combinaciones de autoanticuerpos con diversas especificidades en el suero es altamente sensible y específica para la diabetes mellitus de tipo I humana. Por ejemplo, la presencia de autoanticuerpos frente a GAD y/o IA-2 es sensible en aproximadamente un 98 % y específica en un 99 % para la identificación de la diabetes mellitus de tipo I a partir del suero de control. En parientes de primer grado no diabéticos de pacientes con diabetes de tipo I, la presencia de autoanticuerpos específicos para dos de los tres autoantígenos que incluyen GAD, insulina e IA-2 expresa un valor predictivo positivo > 90 % para el desarrollo de DM de tipo I en 5 años.

60

En otra realización, la enfermedad tratada con la invención proporcionada en el presente documento es la uveítis autoinmune. La uveítis autoinmune es una enfermedad autoinmune del ojo que se calcula que afecta a 400,000 personas, con una incidencia de 43.000 nuevos casos al año en Estados Unidos. En la actualidad, la uveítis autoinmune se trata con esteroides, agentes inmunosupresores tales como metotrexato y ciclosporina, inmunoglobulina intravenosa, y antagonistas del TNF α .

En otra realización, la enfermedad tratada con la invención proporcionada en el presente documento es la uveítis autoinmune experimental (EAU). La EAU es una enfermedad autoinmune mediada por linfocitos T que se dirige a la retina neural, úvea, y tejidos relacionados en el ojo. La EAU comparte muchas características clínicas e inmunológicas con la uveítis autoinmune humana, y se induce mediante administración periférica de péptido uveitogénico emulsionado en Adyuvante Completo de Freund (CFA).

En otra realización, la enfermedad tratada con los procedimientos que se proporcionan en el presente documento es la cirrosis biliar primaria (PBC). La PBC es una enfermedad autoinmune específica de órganos que afecta predominantemente a las mujeres entre 40-60 años de edad. La prevalencia informada entre este grupo alcanza 1 de 1.000. La PBC se caracteriza por la destrucción progresiva de las células del epitelio biliar intrahepático (IBEC) que revisten los conductos biliares intrahepáticos pequeños. Esto conduce a la obstrucción e interferencia con la secreción biliar, causando cirrosis en el futuro. Se ha informado de la asociación con otras enfermedades autoinmunes caracterizadas por daño al revestimiento del epitelio/sistema secretor, que incluye Síndrome de Sjogren, Síndrome de CREST, enfermedad tiroidea autoinmune y artritis reumatoide.

En otra realización, la enfermedad tratada con la invención proporcionada en el presente documento es la enfermedad celíaca, también conocida como celiacía o enteropatía sensible al gluten. La enfermedad celíaca es una enfermedad que resulta de una absorción gastrointestinal defectuosa debida a la hipersensibilidad a las proteínas que se almacenan en el grano de cereal, incluyen glútenes o sus productos gliadina y glutenina, presentes en el trigo, cebada y avena. La enfermedad está causada por los linfocitos CD4 T que reconocen la gliadina como antígeno dietético y estas células inducen una respuesta inflamatoria crónica mediada por T_H1. Se observan algunos síntomas que incluyen diarrea, pérdida de peso, y esteatorrea, atrofia de las vellosidades y malabsorción. También se puede asociar con la dermatitis herpetiforme, una erupción cutánea vesicular. La enfermedad celíaca se asocia a los alelos DQB1*0302 y DQB1*0201 combinados con DQA1*0301 y DQA1*0501. Un 95 % de los pacientes portan cualquiera de DQB1*0201 o DQB1*0302. Se cree que la fuerte asociación de HLA se debe a la capacidad de las moléculas de DQ codificadas por DQB1*0201, DQA1*0501, DQB1*0302 y DQA1*0301 para presentar de forma eficaz variantes desaminadas de péptidos ricos en glutamina derivados de gliadina y glutenina.

En otra realización, el uso para el tratamiento de una enfermedad autoinmune en un sujeto implica adicionalmente la inhibición de la proliferación o la función de los linfocitos T que son sensibles a un autoantígeno. El procedimiento patológico de enfermedades autoinmunes y rechazo inmune está mediado por los linfocitos T. Después de la unión y reconocimiento de un antígeno, los linfocitos T proliferan, secretan citoquinas y reclutan al sitio células inflamatorias y citotóxicas adicionales.

Además, en otra realización, la invención que se describe en el presente documento para el tratamiento de una enfermedad autoinmune en un sujeto implica la unión de copolímero aleatorio a una proteína de clase II del complejo de histocompatibilidad principal que se asocia con una enfermedad autoinmune. Las proteínas de MHC de Clase II se expresan predominantemente en las superficies de los linfocitos B y células de presentación de antígenos tales como macrófagos. Estas proteínas de MHC de Clase II tienen una hendidura de unión a péptido que es el sitio en el que los péptidos antigénicos se presentan a los linfocitos T. Cuando los copolímeros aleatorios presentes se unen a una proteína de clase II del complejo de histocompatibilidad principal, esos copolímeros aleatorios pueden bloquear o de otro modo interferir con la presentación del antígeno y/o la activación de linfocitos T.

En una realización específica, la enfermedad tratada con la invención que se describe en el presente documento comprende esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (SLE), gastritis, hepatitis autoinmune, anemia hemolítica, hemofilia autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), uveorretinitis autoinmune, glomerulonefritis, síndrome de Guillain-Barre, psoriasis, miastenia gravis, encefalomiелitis autoinmune, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, pénfigo paraneoplásico, púrpura trombocitopénica autoinmune, esclerodermia con anticuerpos anti-colágeno, enfermedad mixta del tejido conectivo, anemia perniciosa, polimiositis, enfermedad de Addison idiopática, infertilidad asociada con autoinmunidad, penfigoide ampolloso, síndrome de Sjogren, mixedema idiopático o colitis. En algunas realizaciones, el sujeto está afectado con más de una enfermedad.

V. Composiciones terapéuticas

Los copolímeros aleatorios de la presente invención se pueden administrar al sujeto como una composición que comprende una cantidad de copolímero farmacéuticamente eficaz y un vehículo y/o excipientes aceptables. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye cualquier disolvente, medios de dispersión, o revestimientos que son fisiológicamente compatibles. El vehículo es adecuado para administración subcutánea. Un vehículo farmacéuticamente aceptable a modo de ejemplo es la solución salina fisiológica. Otros vehículos farmacéuticamente aceptables y sus formulaciones se conocen bien y por lo general se describen, por ejemplo, en

Remington's Pharmaceutical Science (18ª Ed, ed. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990). En la técnica se conocen diversos excipientes farmacéuticamente aceptables y se pueden encontrar, por ejemplo, en Handbook of Pharmaceutical Excipients (4ª ed., Ed. Rowe y col., Pharmaceutical Press, Washington, D.C.). La composición se puede formular como una solución, microemulsión, liposoma, cápsula, comprimido, u otras formas adecuadas. El componente activo que comprende el copolímero se puede revestir en un material para protegerlo de la inactivación por el entorno antes de alcanzar sitio de acción diana. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención son preferentemente estériles y no pirógenas en el momento de la administración, y son preferentemente estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento.

En otras realizaciones de la presente invención, las composiciones farmacéuticas son formulaciones de liberación regulada. Los copolímeros de la presente invención se pueden mezclar con polímeros o matrices biológicamente compatibles que controlan una tasa de liberación de los copolímeros en el entorno inmediato. Las composiciones de liberación controlada o sostenida incluyen formulación en depósitos lipófilos (por ejemplo, ácidos grasos, ceras, aceites).

En algunas realizaciones de la presente invención, las composiciones farmacéuticas comprenden copolímeros aleatorios formulados con aceite y emulgente para formar micropartículas y/o emulsiones de agua en aceite. En la aceite puede ser cualquier material hidrófobo no tóxico líquido a temperatura ambiente hasta aproximadamente la temperatura corporal, tales como aceites vegetales comestibles que incluyen aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de maíz y aceite de colza; o aceite mineral. También se pueden usar sustancias oleosas químicamente definidas tales como lauril glicol. El emulgente útil para esta realización incluye Span 20 (monolaurato de sorbitán) y fosfatidilcolina. En algunas realizaciones, una composición de copolímero aleatorio se prepara en forma de una solución acuosa y se prepara en una emulsión de agua en aceite dispersada en aceite de un 95 % a un 65 % tal como aceite mineral, y en emulgente de un 5 % a un 35 % tal como Span 20. En otra realización de la invención, la emulsión se forma con alumbre en lugar de con aceite y emulgente. Estas emulsiones y micropartículas reducen la velocidad de absorción del copolímero aleatorio, y consiguen la administración controlada del antígeno.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas también incluyen agentes terapéuticamente activos adicionales. Tal ingrediente adicional puede ser al menos un copolímero aleatorio adicional, tal como un Copolímero 1 (YEAKE, Copaxone™) que se une a una molécula diferente de HLA, un anticuerpo que se une a una molécula o citoquina inflamatoria no deseada tal como interleuquina-6, interleuquina-8, factor de estimulación de colonias de macrófagos y granulocitos, y factor α de necrosis tumoral; un inhibidor enzimático tal como un inhibidor de proteasa aprotinina o un inhibidor de la ciclooxigenasa; un antibiótico tal como amoxicilina, rifampicina, eritromicina; un agente antiviral tal como aciclovir; un agente antiinflamatorio esteroideo tal como un glucocorticoide; un agente antiinflamatorio no esteroideo tal como aspirina, ibuprofeno, o acetaminofeno; o una citoquina no inflamatoria tal como interleuquina-4 o interleuquina-10. Como un ingrediente adicional también se pueden usar otras citoquinas y factores de crecimiento tales como interferón- β , factores de necrosis tumoral, factores antiangiogénicos, eritropoyetinas, trombopoyetinas, interleuquinas, factores de maduración, proteína quimiotáctica, y sus variantes y derivados que mantienen actividades fisiológicas similares.

En algunas realizaciones, el agente terapéuticamente activo adicional se selecciona entre el grupo que consiste en cremas anti-psoriasis, gotas oculares, gotas nasales, Sulfasalazina, glucocorticoides, propiltiouracilo, metimazol, ¹³¹I, insulina, IFN- β 1a, IFN- β 1b, glucocorticoides, ACTH, avonex, azatiopurina, ciclofosfamida, UV-B, PUVA, metotrexato, calcipitriol, ciclofosfamida, OKT3, FK-506, ciclosporina A, azatioprina, y micofenolato de mofetilo.

Los copolímeros de la invención también se pueden usar en combinación con fármacos antiobesidad. Algunos fármacos antiobesidad incluyen agonistas de P-3, antagonistas de CB-1, supresores del apetito, tales como, por ejemplo, sibutramina (Meridia), e inhibidores de lipasa, tales como, por ejemplo, orlistat (Xenical). En la invención, también se pueden usar los copolímeros objeto en combinación con fármacos usados habitualmente para tratar trastornos lipídicos en pacientes diabéticos. Tales fármacos incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, ácido nicotínico, sequestradores de ácidos biliares, y derivados de ácido fibríco. Los polipéptidos de la invención también se pueden usar en combinación con fármacos antihipertensivos, tales como, por ejemplo, β -bloqueantes, inhibidores de catepsina S e inhibidores de ACE. Algunos ejemplos de β -bloqueantes son: acebutolol, bisoprolol, esmolol, propanolol, atenolol, labetalol, carvedilol, y metoprolol. Algunos ejemplos de inhibidores de ACE son: captopril, enalapril, lisinopril, benazepril, fosinopril, ramipril, quinapril, perindopril, trandolapril, y moexipril.

Se puede proporcionar un kit que comprende (i) una composición que comprende el copolímero aleatorio y (ii) instrucciones para administrar la composición a un sujeto con necesidad del mismo a intervalos mayores de 168 horas, para el tratamiento de una enfermedad autoinmune. En una realización, el trastorno autoinmune es esclerosis múltiple. En otra realización preferente, el copolímero aleatorio se formula en dosificaciones para la administración de más de aproximadamente 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210, 216, 222, 228, 234, o 240 horas, o cualquier intervalo intermedio de las mismas. En otra realización de los kits que se describen en el presente documento, las instrucciones indican que el polímero aleatorio se tiene que administrar cada aproximadamente 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210, 216, 222, 228, 234, o 240 horas, o cualquier intervalo intermedio. Los kits pueden comprender componentes adicionales, tales como embalaje y uno o más aparatos para la administración del copolímero, tal como una jeringa hipodérmica.

En una realización específica, la enfermedad autoinmune se selecciona entre el grupo que consiste en esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (SLE), gastritis, hepatitis autoinmune, anemia hemolítica, hemofilia autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), uveorretinitis autoinmune, glomerulonefritis, síndrome de Guillain-Barré, psoriasis, miastenia gravis, encefalomiелitis autoinmune, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, pénfigo paraneoplásico, púrpura trombocitopénica autoinmune, esclerodermia con anticuerpos anti-colágeno, enfermedad mixta del tejido conectivo, anemia perniciosa, polimiositis, enfermedad de Addison idiopática, infertilidad asociada con autoinmunidad, penfigoide ampoloso, síndrome de Sjogren, mixedema idiopático y colitis.

VI. Tratamiento

La presente invención proporciona composiciones para su uso para tratar un sujeto que padece o se sospecha que padece una enfermedad autoinmune, mediante la administración de uno o más copolímeros aleatorios al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz. En particular, en la invención se proporciona la administración subcutánea de una composición farmacéutica que comprende la composición de copolímero aleatorio. La inyección subcutánea induce más respuestas inmunes deseadas influenciadas para la respuesta de T_H2, que es la base para la tolerancia a ciertos antígenos.

En general, el tratamiento de la presente invención, que es la inmunomodulación del sujeto con necesidad de tratamiento, se puede diferenciar de la vacunación. Una vacunación con éxito depende de la inmunogenicidad de la vacuna que se administra, que aumenta la concentración de los anticuerpos directamente reactivos frente a los antígenos en la vacuna. Por el contrario, los copolímeros aleatorios de la presente invención son eficaces en el tratamiento de enfermedades sin inducir una alta concentración de anticuerpos frente a los propios copolímeros. Como se demuestra mediante los Ejemplos posteriores, la eficacia de la presente invención no depende de la producción de anticuerpos frente a los copolímeros, y por lo tanto es fundamentalmente diferente a la vacunación. A diferencia de la vacunación, los copolímeros aleatorios de la presente invención, administrados de acuerdo con la presente invención, inducen tolerancia hacia los antígenos relacionados con enfermedad, y más específicamente, inducen tolerancia periférica. La tolerancia periférica, a diferencia de la tolerancia central, tiene la ventaja de ser más segura como fenómeno modulador.

En general, una realización de la invención es administrar una dosis adecuada de la composición de copolímero terapéutico que será la dosis eficaz más baja que produzca un efecto terapéutico, por ejemplo, la atenuación de los síntomas. Los copolímeros terapéuticos se administran preferentemente a una dosis por sujeto, que corresponde a una dosis por día de al menos aproximadamente 2 mg, al menos aproximadamente 5 mg, al menos aproximadamente 10 mg, o al menos aproximadamente 20 mg según sea apropiado de dosificaciones mínimas de partida, o aproximadamente x mg, en el que x es un número entero entre 1 y 20. En una realización descrita en el presente documento, se puede administrar una dosis de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg/kg. En general, la dosificación eficaz del compuesto de la presente invención es de aproximadamente 50 a aproximadamente 400 microgramos del compuesto por kilogramo del sujeto por día. En una realización específica, la dosificación equivalente por día, independientemente de la frecuencia con que se administran las dosis, es de aproximadamente 5 a 100, o más preferentemente, de aproximadamente 10 a 40, o más preferentemente aproximadamente 20 mg/día. En otra realización específica, cada dosificación individual en el régimen de tratamiento es de aproximadamente 5 a 100, o más preferentemente de aproximadamente 10 a 40, o más preferentemente aproximadamente 20 mg/dosis.

Sin embargo, el experto en la materia ha de entender que la dosis de la composición de la invención variará dependiendo del sujeto y de la vía particular de administración usada. Es una rutina en la técnica ajustar la dosificación para que se adapte a los sujetos individuales. Además, la cantidad eficaz se puede basar, entre otras cosas, en el tamaño del compuesto, la biodegradabilidad del compuesto, la bioactividad del compuesto y la biodisponibilidad del compuesto. Si el compuesto no se degrada rápidamente, está biodisponible y es altamente activo, se requerirá una cantidad menor para que sea eficaz. La dosificación real adecuada para un sujeto se puede determinar fácilmente como práctica de rutina por el experto en la materia, por ejemplo un médico o un veterinario dado un punto general de partida. Por ejemplo, el médico o el veterinario podrían iniciar la dosis del compuesto de la invención empleada en la composición farmacéutica con un nivel inferior que el requerido con el fin de conseguir el efecto terapéutico deseado, y aumentar la dosificación con el tiempo hasta que se consiga el efecto deseado. El médico o veterinario también puede referirse a las recomendaciones para la administración de Copaxone™ como punto de partida general.

En el contexto de la invención, la expresión "régimen de tratamiento" pretende incluir las modalidades terapéutica, paliativa y profiláctica de administración de una o más composiciones que comprenden uno o más copolímeros aleatorios. Un régimen de tratamiento particular puede durar un periodo de tiempo que variará dependiendo de la naturaleza de la enfermedad o trastorno particular, su gravedad y las condiciones generales del paciente.

Para el seguimiento del tratamiento, el paciente se monitoriza para cambios en sus condiciones o para el alivio de los síntomas del trastorno o patología. La dosificación del polímero se puede aumentar en el caso de que el paciente no responda significativamente a los niveles de dosificación actuales, o la dosificación se puede disminuir si se observa un alivio de los síntomas del trastorno o la patología, o si el trastorno o la patología se ha eliminado, o si se

observan efectos secundarios inaceptables con la dosificación de partida.

En una realización, se administra al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de copolímero aleatorio en un régimen de tratamiento que comprende intervalos de al menos 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210, 216, 222, 228, 234, o 240 horas, o la cantidad equivalente de días. En algunas realizaciones, el agente se administra semanalmente. Si se administran dos copolímeros al sujeto, tales copolímeros se pueden administrar al mismo tiempo, tal como simultáneamente, o básicamente al mismo tiempo, tal como en sucesión. Alternativamente, la administración se puede escalar.

Como se muestra mediante los Ejemplos posteriores, los regímenes de tratamiento con intervalos de dosificación más largos, por lo tanto a menudo con menor exposición total de copolímeros, inducen menores concentraciones de anticuerpos frente a los propios copolímeros, mientras que aún inducen los efectos protectores deseados. Tal reducción de anticuerpos neutralizantes es deseable debido a que se considera que probablemente ayudan a las composiciones de copolímero aleatorio a conservar su eficacia sin neutralizarse, y se asocia a un riesgo reducido de choque anafiláctico, proporcionando tratamientos de enfermedades más seguros. Los regímenes de intervalos más largos también son deseables debido a que refuerzan la influencia para las respuestas de T_H2 , que se considera que es el modo de acción para las terapias de copolímero aleatorio.

En una realización, el polímero se administra al sujeto al menos tres veces durante un régimen de tratamiento, de modo que hay al menos dos intervalos de tiempo entre administraciones. Estos intervalos se pueden indicar como I_1 e I_2 . Si el polímero se administra cuatro veces, entonces existiría un intervalo adicional entre la tercera y cuarta administraciones, I_3 , de modo que el número de intervalos para un número "n" dado de administraciones es n-1. Por lo tanto, los intervalos de tiempo entre administraciones son mayores de 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210, 216, 222, 228, 234, o 240 horas.

En aún otra realización, el intervalo de tiempo promedio entre administraciones $((I_1 + I_2 + \dots + I_{n-1})/n-1)$ es al menos 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210, 216, 222, 228, 234, o 240 horas, o al menos dos semanas.

En otra realización, el régimen de dosificación consiste en dos o más conjuntos de intervalos diferentes. Para un régimen de dosificación que comprende la dosificación de un copolímero aleatorio cada semana, la dosis comprende hasta aproximadamente 500 mg/m^2 , y para un régimen de dosificación que comprende la dosificación del copolímero aleatorio cada dos semanas o cada mes, se pueden administrar hasta $1,5 \text{ g/m}^2$. La primera parte del régimen de dosificación se puede administrar durante hasta 30 días, por ejemplo, 7, 14, 21, o 30 días. Puede seguir opcionalmente una segunda parte posterior del régimen de dosificación con un intervalo de administración diferente mayor con habitualmente menor exposición (dosificación en disminución), administrado semanalmente, cada 14 días, o mensualmente, por ejemplo, a 500 mg/m^2 de área de superficie corporal semanalmente, hasta un máximo de aproximadamente $1,5 \text{ g/m}^2$ de área de superficie corporal, continuando durante 4 semanas hasta dos años, por ejemplo, 4, 6, 8, 12, 16, 26, 32, 40, 52, 63, 68, 78, o 104 semanas. Alternativamente, si la enfermedad experimenta una remisión o mejora generalmente, la dosificación se puede mantener o conservar en una cantidad menor que el máximo, por ejemplo, a 140 mg/m^2 de área de superficie corporal semanalmente. Si, durante el régimen de dosificación en disminución, se produce una recaída de las condiciones de la enfermedad, se puede reanudar el primer régimen de dosificación hasta que se observe efecto, y se pueda implementar el segundo régimen de dosificación. Este ciclo se puede repetir múltiples veces según sea necesario.

Cualquiera de los usos y medios se pueden poner en práctica usando composiciones y formulaciones que se describen en la presente solicitud.

En otras realizaciones de la invención, cualquiera de los usos de la invención se puede poner en práctica usando una formulación de liberación sostenida que comprende un copolímero aleatorio. Cuando se administra un copolímero aleatorio de la invención usando una fórmula de liberación sostenida, la exposición global del copolímero es generalmente inferior a la administración en bolo. En algunas realizaciones de la invención, el régimen de dosificación usa una fórmula de liberación sostenida, dosificando al sujeto semanalmente, quincenalmente, o mensualmente de modo que el copolímero se libere durante el intervalo. Para un régimen de dosificación que comprende dosificación del copolímero aleatorio cada semana, la dosis comprende hasta aproximadamente 140 mg/m^2 , y para un régimen de dosificación que comprende la dosificación del copolímero aleatorio cada dos semanas o cada mes, se pueden administrar hasta 750 mg/m^2 . La primera parte del régimen de dosificación se puede administrar durante hasta 30 días, por ejemplo, 7, 14, 21, o 30 días. Puede seguir opcionalmente una segunda parte posterior del régimen de dosificación con un intervalo de dosificación diferente mayor con habitualmente menor exposición (dosificación en disminución), administrada semanalmente, cada 14 días, o mensualmente, por ejemplo, a 140 mg/m^2 de área de superficie corporal semanalmente, hasta un máximo de aproximadamente $1,5 \text{ g/m}^2$ de área de superficie corporal, continuando durante 4 semanas hasta dos años, por ejemplo, 4, 6, 8, 12, 16, 26, 32, 40, 52, 63, 68, 78, o 104 semanas. Alternativamente, si la enfermedad experimenta una remisión o mejora generalmente, la dosificación se puede mantener o conservar en una cantidad menor que el máximo, por ejemplo, a 140 mg/m^2 de área de superficie corporal semanalmente. Si, durante el régimen de dosificación en disminución, se produce una recaída de las condiciones de la enfermedad, se puede reanudar el primer régimen de dosificación hasta que se observe efecto, y se pueda implementar el segundo régimen de dosificación. Este ciclo se puede repetir múltiples veces según sea necesario.

En cualquiera de las realizaciones a modo de ejemplo descritas anteriormente, el volumen de cada forma de dosificación es preferentemente de 0,1 ml a 5 ml.

En la invención, la vía de administración es subcutánea. En la invención, el copolímero aleatorio se administra subcutáneamente.

- 5 En una realización de la presente invención, la administración de los copolímeros de la presente invención es en una forma de liberación sostenida. Tales usos comprenden implantar una cápsula de liberación sostenida o un dispositivo médico implantable revestido de modo que se suministre una dosis terapéuticamente eficaz del copolímero de la presente invención a intervalos de tiempo definidos a un sujeto de tal tratamiento. Los compuestos y/o agentes de la invención se pueden suministrar a través de una cápsula que permita la liberación regulada del copolímero aleatorio durante un período de tiempo. Las composiciones de liberación controlada o sostenida incluyen la formulación en depósitos lipofílicos (por ejemplo, ácidos grasos, ceras, aceites). La invención también comprende composiciones formadas por partículas revestidas con polímeros (por ejemplo, poloxámeros o poloxaminas). En ciertas realizaciones, se proporciona estereotácticamente una fuente del copolímero en o próxima al área del ataque autoinmune, por ejemplo, cerca del páncreas para el tratamiento de IDDM.
- 10
- 15 En ciertas realizaciones, las invenciones que se describen en el presente documento permiten el tratamiento continuo de enfermedades autoinmunes mediante un vehículo de liberación sostenida tal como parches transdérmicos, dispositivos médicos implantables revestidos con formulaciones de liberación sostenida, o una formulación farmacéutica implantable o inyectable adecuada para la liberación sostenida de los componentes activos.
- 20 En una realización específica, los copolímeros aleatorios se formulan para un efecto terapéutico de larga duración de modo que se observe un efecto terapéutico en el tratamiento de la enfermedad cuando los copolímeros aleatorios se administran al sujeto en intervalos de tiempo de al menos 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210, 216, 222, 228, 234, o 240 horas entre administraciones.

25 La presente invención también proporciona el tratamiento profiláctico de un sujeto con el riesgo de desarrollar, por ejemplo, una enfermedad autoinmune mediante la administración de un copolímero aleatorio. Un sujeto con riesgo se identifica, por ejemplo, mediante la determinación de la susceptibilidad genética a una enfermedad autoinmune sometiendo a ensayo los alelos de HLA que están asociados a tal enfermedad autoinmune, y/o basándose en la historia familiar, u otros marcadores genéticos que correlacionen con tal enfermedad autoinmune. Tal tratamiento profiláctico puede comprender además un segundo copolímero que se una a una segunda molécula de HLA asociada a la enfermedad autoinmune que se va a tratar. La segunda molécula de HLA puede ser una molécula de HLA-DQ o HLA-DR. Preferentemente, la enfermedad autoinmune que se va a tratar profilácticamente es IDDM o enfermedad celíaca.

30

35 En otras realizaciones de la invención que se describen en el presente documento, se administran agentes terapéuticamente activos adicionales al sujeto. En una realización, se administran composiciones que comprenden el agente o agentes terapéuticos adicionales al sujeto como composiciones distintas de las que comprenden el polímero aleatorio. Por ejemplo, se puede administrar a un sujeto una composición que comprende un copolímero aleatorio subcutáneamente mientras que se puede administrar oralmente una composición que comprende otro agente terapéutico. Los agentes terapéuticamente activos adicionales pueden tratar la misma enfermedad que el copolímero aleatorio, una enfermedad relacionada, o se pueden destinar a tratar un efecto secundario no deseado de la administración del copolímero, tal como reducir la hinchazón en el sitio de la inyección intradérmica.

40

45 Algunos agentes terapéuticamente activos adicionales que se pueden administrar al sujeto incluyen copolímeros que se unen a una segunda molécula de HLA asociada a la enfermedad, tales como Copaxone™; un anticuerpo, un inhibidor enzimático, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un esteroide, un agente antiinflamatorio no esteroideo, un antimetabolito, una citoquina, o un receptor soluble de citoquina. La segunda molécula de HLA puede ser una molécula de HLA-DQ o una molécula de HLA-DR. El inhibidor enzimático puede ser un inhibidor de proteasa o un inhibidor de ciclooxigenasa. El agente adicional se puede añadir como parte de la composición farmacéutica, o se puede administrar de forma concomitante o dentro de un período de tiempo en el que el efecto fisiológico del agente adicional se solapa con el efecto fisiológico del copolímero de la presente invención. Más particularmente, se puede administrar un agente adicional de forma concomitante o una semana, varios días, 24 horas, 8 horas, o inmediatamente antes de la administración del copolímero. Alternativamente, se puede administrar un agente adicional una semana, varios días, 24 horas, 8 horas, o inmediatamente después de la administración del copolímero.

50

55 Se puede observar una mejoría en los síntomas de un sujeto afectado con esclerosis múltiple (MS) como resultado de la administración del copolímero aleatorio mediante una disminución en la frecuencia de episodios de reaparición de MS, mediante la disminución en la gravedad de los síntomas, o mediante la eliminación de los episodios de reaparición durante un período de tiempo después del comienzo de la administración. Preferentemente, una dosificación terapéuticamente eficaz reduce los síntomas y la frecuencia de reapariciones en al menos aproximadamente un 20 %, por ejemplo, en al menos aproximadamente un 40 %, en al menos aproximadamente un 60 %, y en al menos aproximadamente un 80 %, o en aproximadamente un 100 % de eliminación de uno o más

síntomas, o la eliminación de reapariciones de la enfermedad autoinmune, con respecto a los sujetos sin tratar. El período de tiempo puede ser al menos aproximadamente un mes, al menos aproximadamente seis meses, o al menos aproximadamente un año.

5 Se puede observar una mejoría en los síntomas de un sujeto afectado con artritis o cualquier otro trastorno autoinmune que da como resultado inflamación de las articulaciones mediante una reducción en el edema de una o más articulaciones, mediante una reducción de la inflamación en una o más articulaciones, o mediante un aumento en la movilidad de una o más articulaciones. Preferentemente, una dosificación terapéuticamente eficaz reduce la inflamación y el edema de las articulaciones y mejora la movilidad en al menos aproximadamente un 20 %, más preferentemente en al menos aproximadamente un 40 %, incluso más preferentemente en al menos aproximadamente un 60 %, e incluso aún más preferentemente en al menos aproximadamente un 80 %, con respecto a los sujetos sin tratar.

15 La práctica de la presente invención empleará, cuando sea apropiado y a menos que se indique otra cosa, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, virología, ADN recombinante, e inmunología, que se encuentran dentro de las habilidades de la técnica. Tales técnicas se describen en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª Ed., ed. de Sambrook y Russell (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 2001); el tratado, *Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); *Using Antibodies*, segunda edición de Harlow y Lane, Cold Spring Harbor Press, Nueva York, 1999; *Current Protocols in Cell Biology*, ed. por Bonifacino, Dasso, Lippincott-Schwartz, Harford, y Yamada, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1999; y *PCR Protocols*, ed. por Bartlett y col., Humana Press, 2003.

20 VII. Ejemplos

Ejemplo 1. Producción de anticuerpo frente a copolímeros aleatorios y un péptido antigénico asociado a enfermedad

25 El péptido PLP (139-151) es el determinante inmunogénico principal reconocido por los linfocitos T_H1 $CD4^+$ que a su vez dirigen el desarrollo de EAE en ratones SJL. Cuando se inyectan con toxina pertussis, el péptido PLP (139-151) causa síntomas de tipo MS en los ratones SJL. En ausencia de la toxina pertussis, los animales infectados desarrollan solo una enfermedad moderada y transitoria. La capacidad de las composiciones de copolímero aleatorio para proteger a los animales del efecto de la inyección de PLP se evaluó en el curso de la dosificación diaria o semanal de los animales después de su exposición al péptido PLP (139-151). También se examinaron los isotipos de anticuerpos. Los linfocitos T $CD4$ se pueden dividir en al menos dos subconjuntos diferentes dependiendo del patrón de su producción de citoquinas. Los linfocitos T_H1 producen preferentemente IL-2 e IFN- γ , activan macrófagos, y estimulan la producción de las subclases de Ig IgG2a e IgG3 en ratones e IgG1 e IgG3 en seres humanos. Por el contrario, la firma de citoquinas de los linfocitos T_H2 es IL-4, IL-5, e IL-13, que proporciona la ayuda de linfocitos B potentes e induce el intercambio de isotipo a IgE e IgG1 en ratones o a IgE, IgG2, e IgG4 en seres humanos. Por lo tanto, se midieron IgG1 e IgG2b de ratón, generalmente asociadas con la respuesta de T_H2 , e IgG2a de ratón, marcadores de inmunidad de T_H1 .

35 Se inmunizaron ratones (SJL, hembra) en el día 1 con 100 μ g de péptido PLP(139-151) en adyuvante de Freund Completo. El mismo día, los animales recibieron una inyección intravenosa de 200 ng de toxina pertussis. En el día 3, se repitió la misma inyección IV. Se inició el tratamiento con Copaxone™ (YEAKE) o Co-14 (YFAK), 7,5 mg/kg, diaria y semanalmente, en el día 6 y continuó diariamente hasta el día 36. En el día 37, se recogieron sueros individuales y se midió la respuesta de anticuerpos frente al péptido PLP (139-151), Co-14 (YFAK), y Copaxone™ usando ELISA convencional con Ig total, IgG1, IgG2a o IgG2b anti-ratón como anticuerpo secundario.

40 Durante el curso del experimento, se midió la gravedad de la enfermedad usando un sistema de calificación convencional entre 0 (sin enfermedad) y 5 (moribundo), y se registró el peso corporal del ratón como otra medida de la patología. Se registró diariamente la tasa de mortalidad de los animales.

45 Aunque la dosificación diaria de Copaxone™ fue eficaz en la reducción de la gravedad de la enfermedad en comparación con la dosificación sola de manitol (Figura 1), la mayoría de los ratones tratados con una dosis diaria de Copaxone™ murieron repentinamente después de aproximadamente 3 semanas de tratamiento (Figura 2). Como se muestra en la Figura 3, la dosificación diaria de Copaxone™ indujo una gran cantidad de anticuerpos en los ratones inyectados supervivientes. Por el contrario, la dosificación diaria con Copaxone™, y la dosificación diaria y semanal con Co-14 (YFAK), dio como resultado unas concentraciones de anticuerpo mucho menores. La respuesta inmune fue predominantemente respuestas de IgG1 + IgG2b (es decir, predominantemente T_H2), y se observó una respuesta de IgG2a (es decir, T_H1) mucho menor. Los pocos ratones supervivientes en el grupo diario de Copaxone™ tuvieron una mayor respuesta de IgG1 e IgG2b frente al compuesto (Figuras 4 y 5), surgiendo la posibilidad de que la causa de la muerte en los ratones dosificados diariamente con Copaxone™ se debiera probablemente a anafilaxis. Por el contrario, la dosificación semanal con Copaxone™, y la dosificación diaria y semanal con Co-14 (YFAK), que mostró unas concentraciones de anticuerpos mucho menores, evitaron el choque anafiláctico y aumentaron la eficacia. Otro ejemplo de concentraciones de anticuerpos se muestra en la Figura 6, donde se administraron Copaxone™ y Co-14 (YFAK) una vez a la semana o 3 veces a la semana. Copaxone™, cuando se administró 3 veces a la semana, indujo la producción de gran cantidad de anticuerpos dirigidos frente a el,

mientras que la dosificación semanal de Copaxone™ y la dosificación de Co-14, ya sea semanal o tres veces a la semana, no indujo una cantidad apreciable de anticuerpos frente a los respectivos copolímeros.

5 Cuando se midieron las concentraciones de anticuerpo para el péptido PLP (139-151), tanto Copaxone™ como Co-14 (YFAK), independientemente del intervalo de dosificación, indujeron pequeños aumentos similares en las cantidades de formación de IgG1 frente al péptido PLP (139-151) (Figura 7) en comparación con la dosificación de vehículo solo. Las concentraciones de IgG2b frente a PLP (139-151) tampoco se vieron afectadas significativamente (Figura 8). Estos resultados muestran que el efecto protector de Copaxone™ o Co-14 (YFAK) no se ejerce a través de la modulación de las cantidades de anticuerpo frente al péptido PLP (139-151).

Ejemplo 2. Respuesta de linfocitos T a copolímeros aleatorios

10 Los perfiles de T_{H1} y T_{H2} de ratones inyectados con 5 µg de Copaxone™ o Co-14 (YFAK) tres veces a la semana o en base semanal, hasta el día 22 de tratamiento. En los días 2, 8, 9, 15, 16, 22, 23, 29, se recogieron los bazo y se aislaron los esplenocitos. Se reestimularon 400.000 células por pocillo de esplenocitos con diversas concentraciones (0,8, 4 o 20 µg/ml) de Co-14 (YFAK) durante tres días. En el día 3 del cultivo celular, las células se transfirieron a placas de ELISPOT (ensayo de puntos por inmunoabsorción unida a enzimas), revestidas con IFN-γ (interferón gamma) o IL-13 (interleuquina 13). La respuesta de linfocitos T se examina midiendo la producción de IFN-γ (una citoquina de T_{H1}) y la producción de IL-13 (una citoquina de T_{H2}). El grado de estimulación de linfocitos T también se examina midiendo la proliferación de las células mostrada como captación de timidina tritiada.

20 Se observó un estallido de respuesta en la primera semana de dosificación, seguido de una respuesta disminuida pero sostenida. Como se observa en la Figura 9, la respuesta está influenciada por T_{H2}, con la producción de IL-13 inducida más fuertemente que la de IFN-γ en todos los casos en las células tratadas con Copaxone™ o Co-14 (YFAK). La influencia de T_{H2} se confirma además por la cantidad de 23 citoquinas y quimioquinas, como se observa en la Figura 10.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición de copolímero aleatorio para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune mediada por linfocitos T_H1, en la que la composición de copolímero aleatorio comprende copolímeros aleatorios que consisten en restos de aminoácido YFAK (L-tirosina, L-fenilalanina, L-alanina y L-lisina) en una proporción de rendimiento molar de aproximadamente 1,0: 1,2: 20,0<30,0: 6,0 respectivamente, en la que la variabilidad de la proporción de rendimiento comprende un intervalo de un 10 % entre los diferentes restos de aminoácido, y la longitud del copolímero está entre 35 y 75 restos de aminoácido, en la que la composición es para suministrar subcutáneamente a un sujeto en dos o más dosis, cada dosis separada por un intervalo de tiempo de al menos 7 días, induciendo de ese modo una respuesta inmune influenciada por T_H2.
- 10 2. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que los copolímeros aleatorios consisten en restos de aminoácido YFAK (L-tirosina, L-fenilalanina, L-alanina y L-lisina) en una proporción de rendimiento molar de aproximadamente 1,0: 1,2: 22,0<30,0: 6,0 respectivamente.
- 15 3. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que los copolímeros aleatorios consisten en restos de aminoácido YFAK (L-tirosina, L-fenilalanina, L-alanina y L-lisina) en una proporción de rendimiento molar de aproximadamente 1,0: 1,2: X_A: 6,0 respectivamente, en la que X_A es 22,0 o 24,0.
4. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la proporción de alanina aumenta con la longitud del copolímero.
- 20 5. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición es para administración a un mamífero.
6. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el mamífero es un ser humano.
7. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la cantidad de composición de copolímero aleatorio consiste en entre 10 mg y 30 mg.
- 25 8. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la cantidad de composición de copolímero aleatorio consiste en entre 15 mg y 25 mg.
9. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la cantidad de composición de copolímero aleatorio es aproximadamente 20 mg.
- 30 10. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la cantidad de composición de copolímero aleatorio es menor de 20 mg.
- 35 11. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la enfermedad se selecciona entre: esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (SLE), gastritis, hepatitis autoinmune, anemia hemolítica, hemofilia autoinmune, síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS), uveorretinitis autoinmune, glomerulonefritis, síndrome de Guillain-Barré, psoriasis, miastenia gravis, encefalomiелitis autoinmune, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Grave, pénfigo paraneoplásico, púrpura trombocitopénica autoinmune, esclerodermia con anticuerpos anti-colágeno, enfermedad mixta del tejido conectivo, anemia perniciosa, polimiositis, enfermedad de Addison idiopática, infertilidad asociada con autoinmunidad, penfigoide ampolloso, síndrome de Sjogren, mixedema idiopático y colitis.
- 40 12. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que la enfermedad es esclerosis múltiple.
13. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la enfermedad es esclerosis múltiple recidivante recurrente.
- 45 14. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el copolímero aleatorio es para administración a través de dispositivos diseñados para suministrar el copolímero aleatorio de forma continua.
15. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición es una formulación de liberación sostenida que comprende un copolímero aleatorio.
16. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición es para administración con un agente terapéuticamente activo adicional.
- 50 17. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en la que el agente adicional es uno o más copolímeros aleatorios.

18. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en la que el agente es un agente antiinflamatorio.

5 19. La composición de copolímero aleatorio para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en la que la composición es una formulación de liberación sostenida para el suministro de una cantidad eficaz de la composición de copolímero aleatorio durante un período de al menos 3 días.

Figura 1
Eficacia de CO-14 en EAE: evolución de la enfermedad

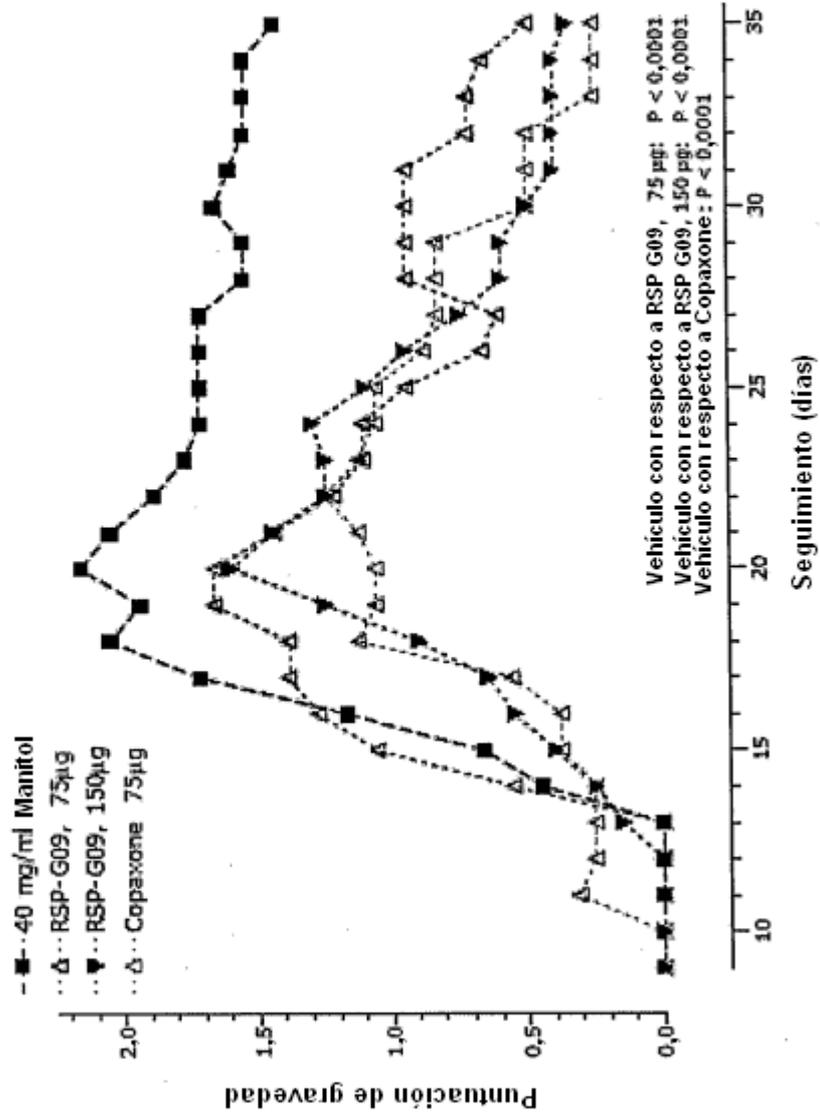


Figura 2
Eficacia en EAE: Proporciones de supervivencia

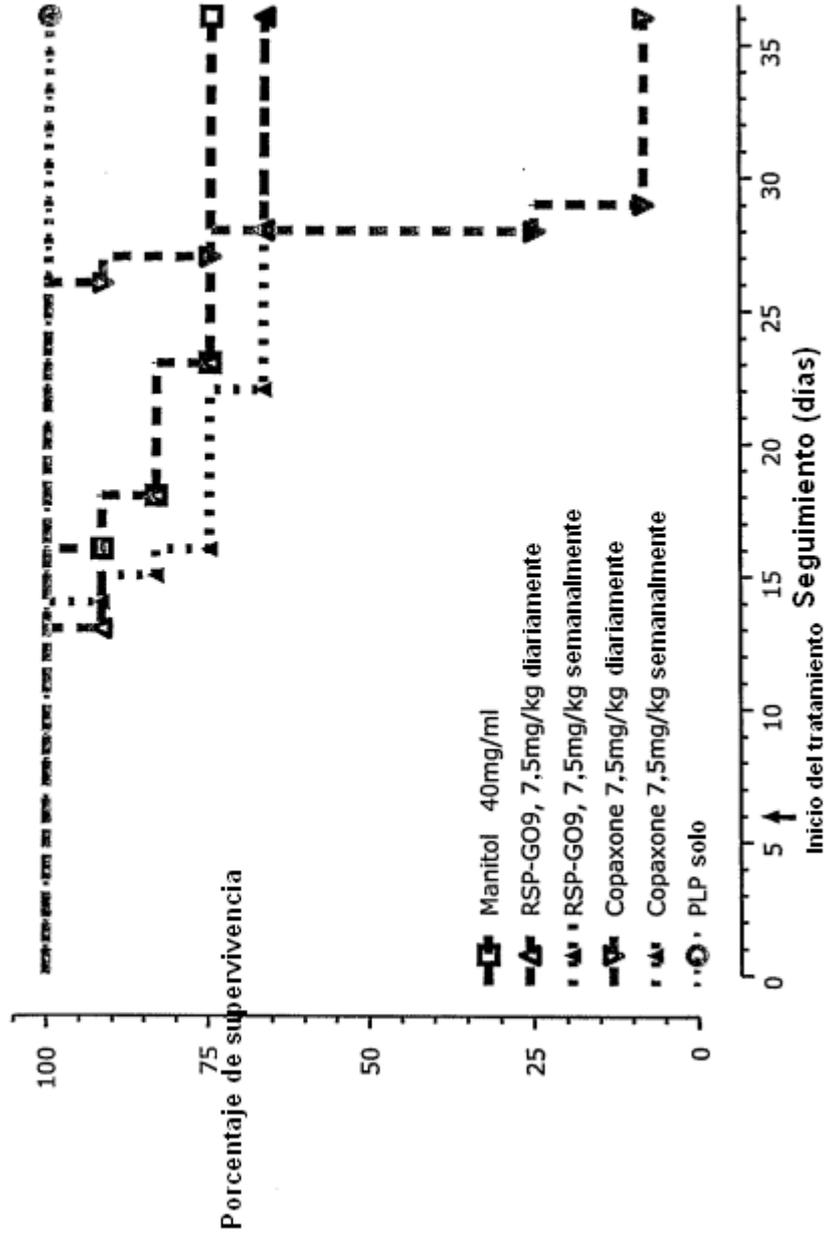


Figura 3

Respuesta del anticuerpo frente a los respectivos Copolímeros

- ELISA de Ig total, día 37 -

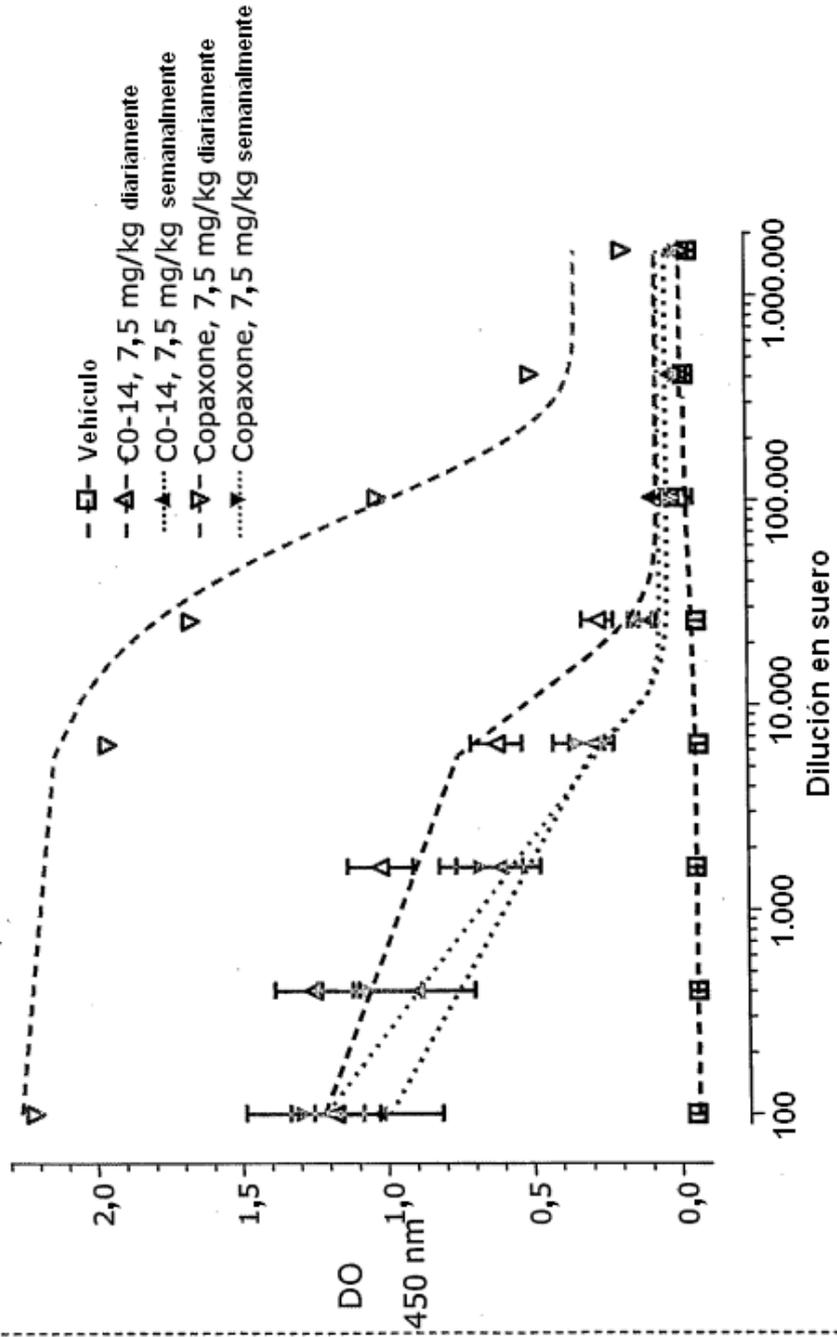


Figura 4
Respuesta del anticuerpo frente a los respectivos Copolímeros
 - ELISA de IgG1, día 37 -

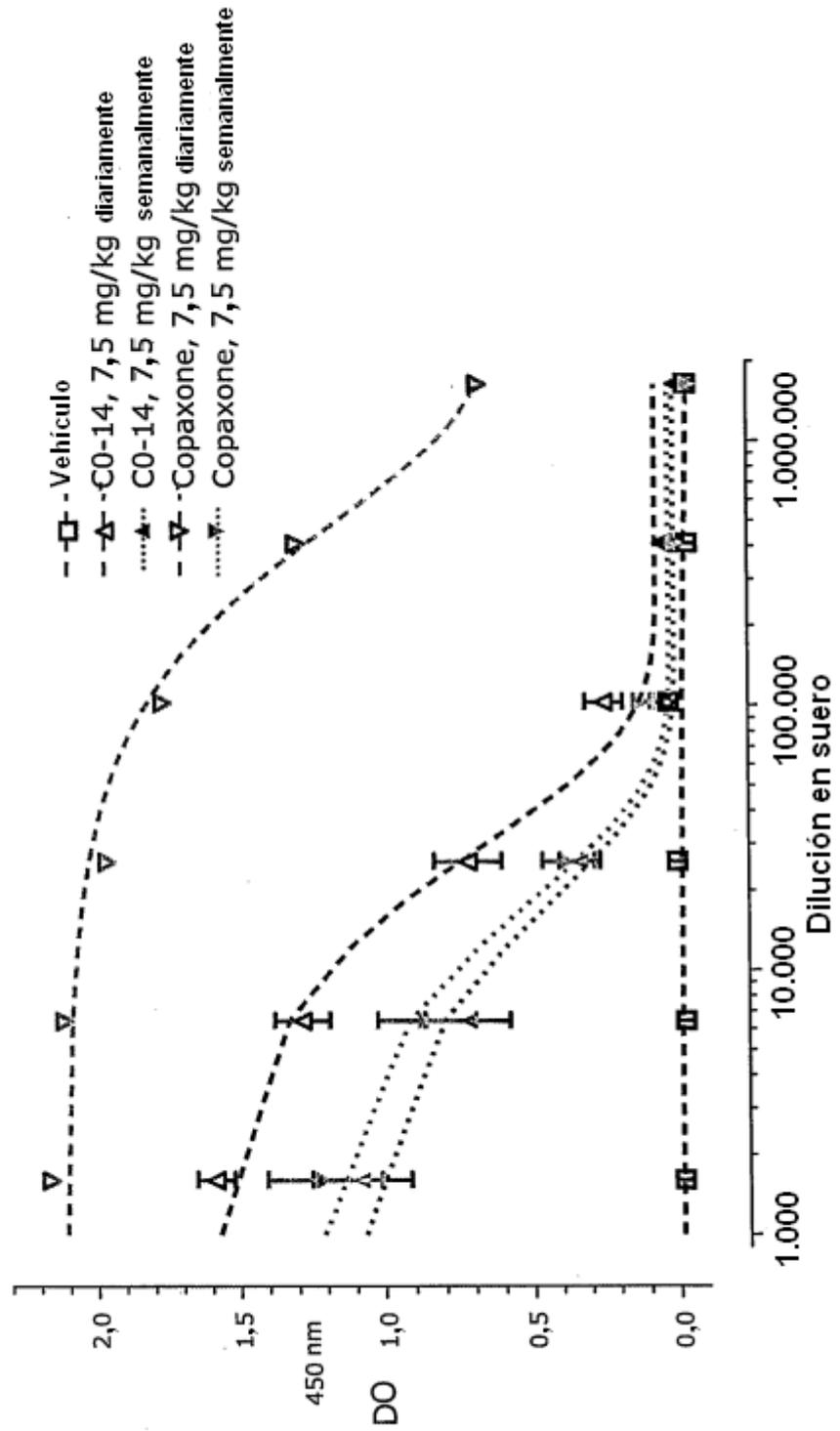


Figura 5
Respuesta del anticuerpo frente a los respectivos Copolímeros
 - ELISA de IgG2b, día 37 -

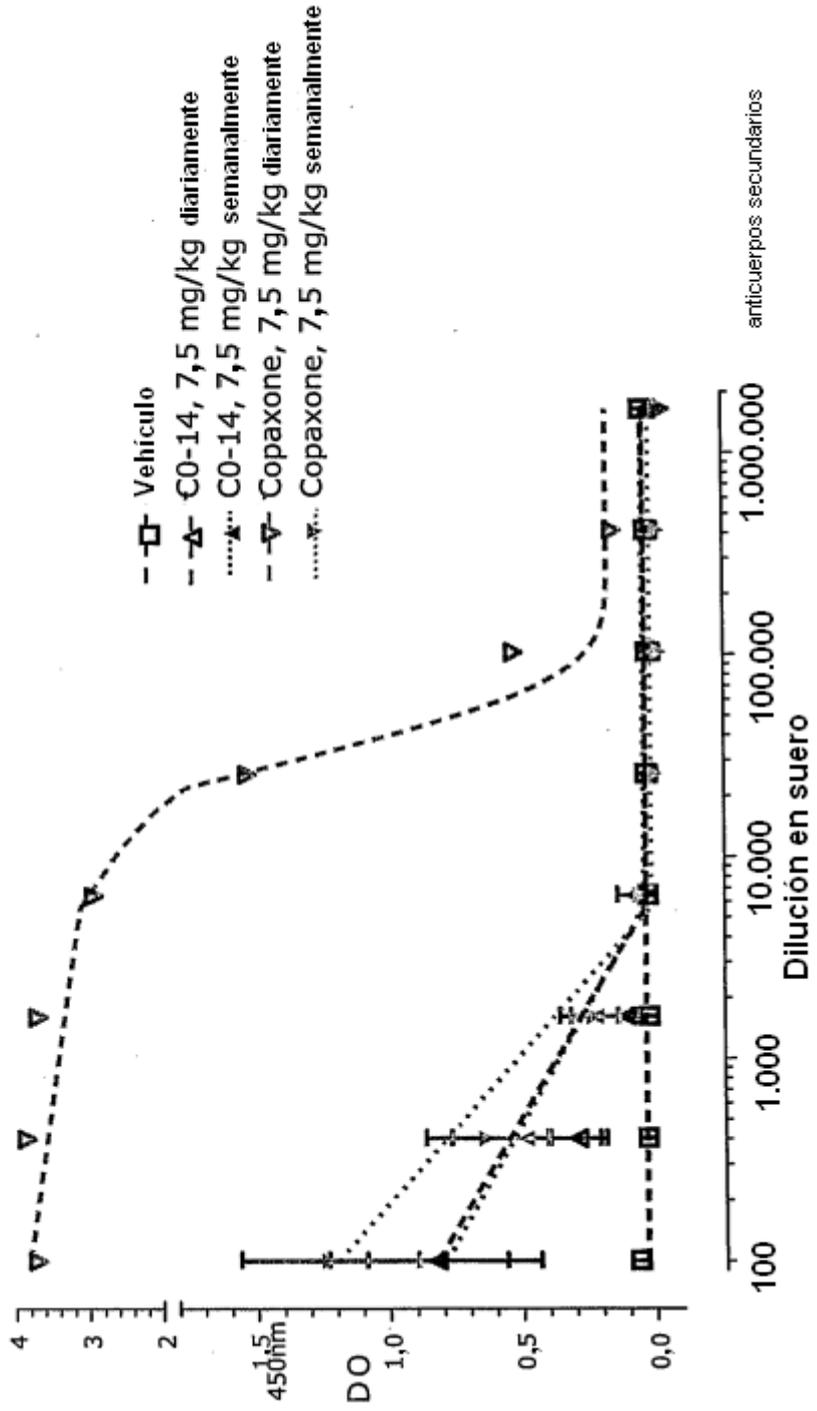


Figura 6

Cambios en los títulos de anticuerpo (IgG) frente a compuestos relevantes durante el transcurso del tratamiento

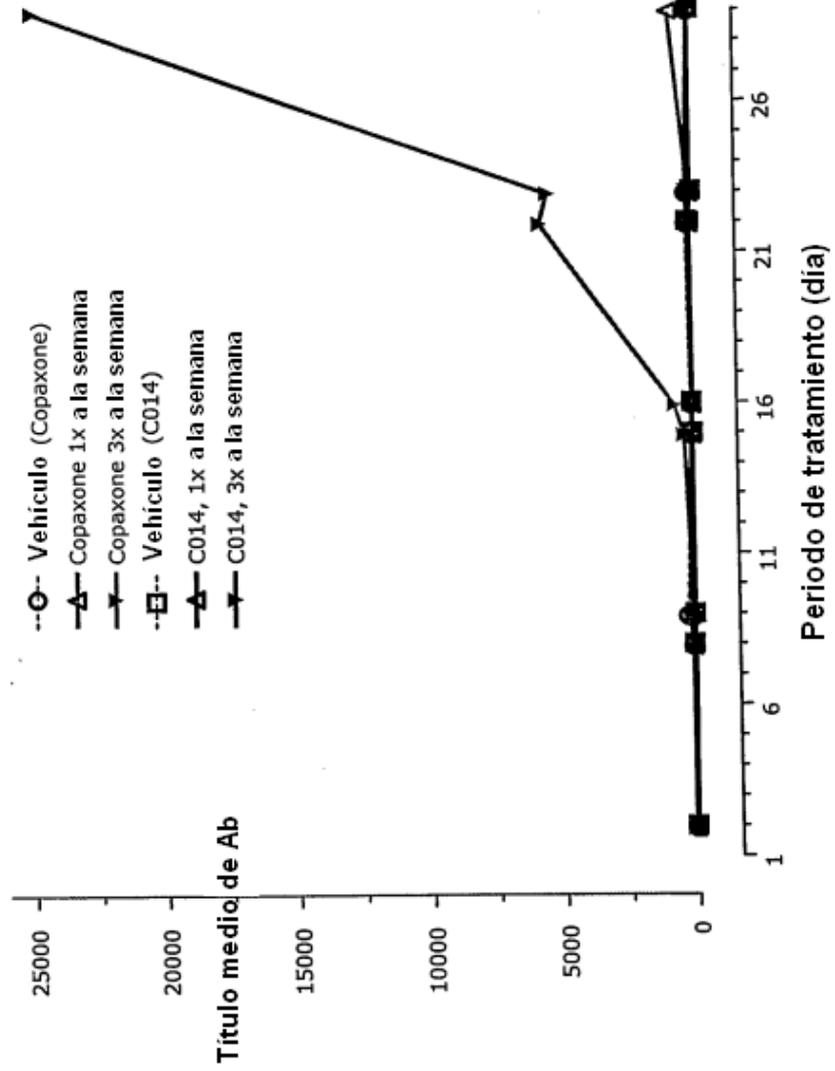


Figura 7
Respuesta del anticuerpo frente al
autoantígeno PLP (139-151)
 - ELISA de IgG1, día 37 -

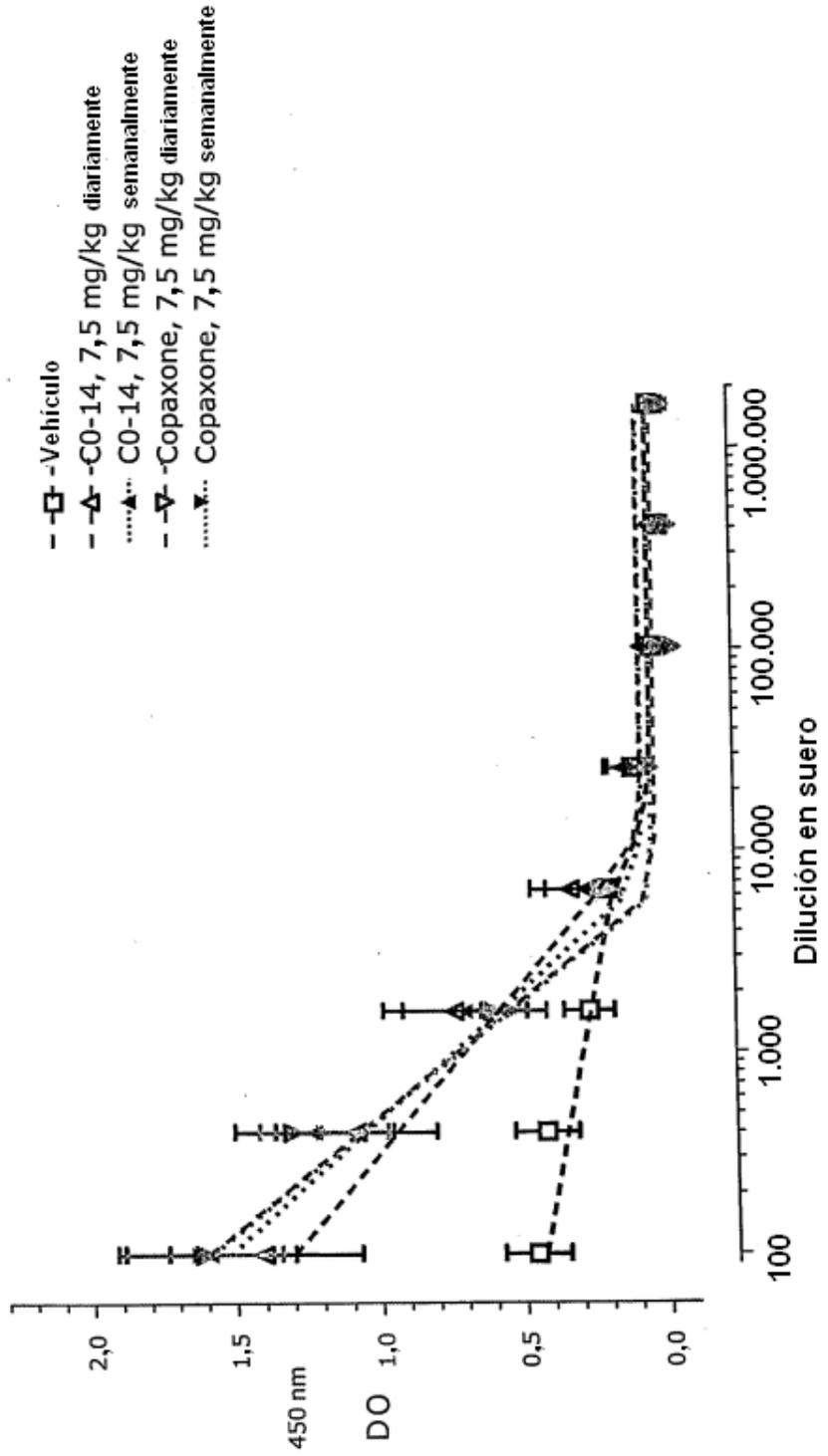


Figura 8
Respuesta del anticuerpo frente al
autoantígeno PLP (139-151)
 - ELISA de IgG2b, día 37 -

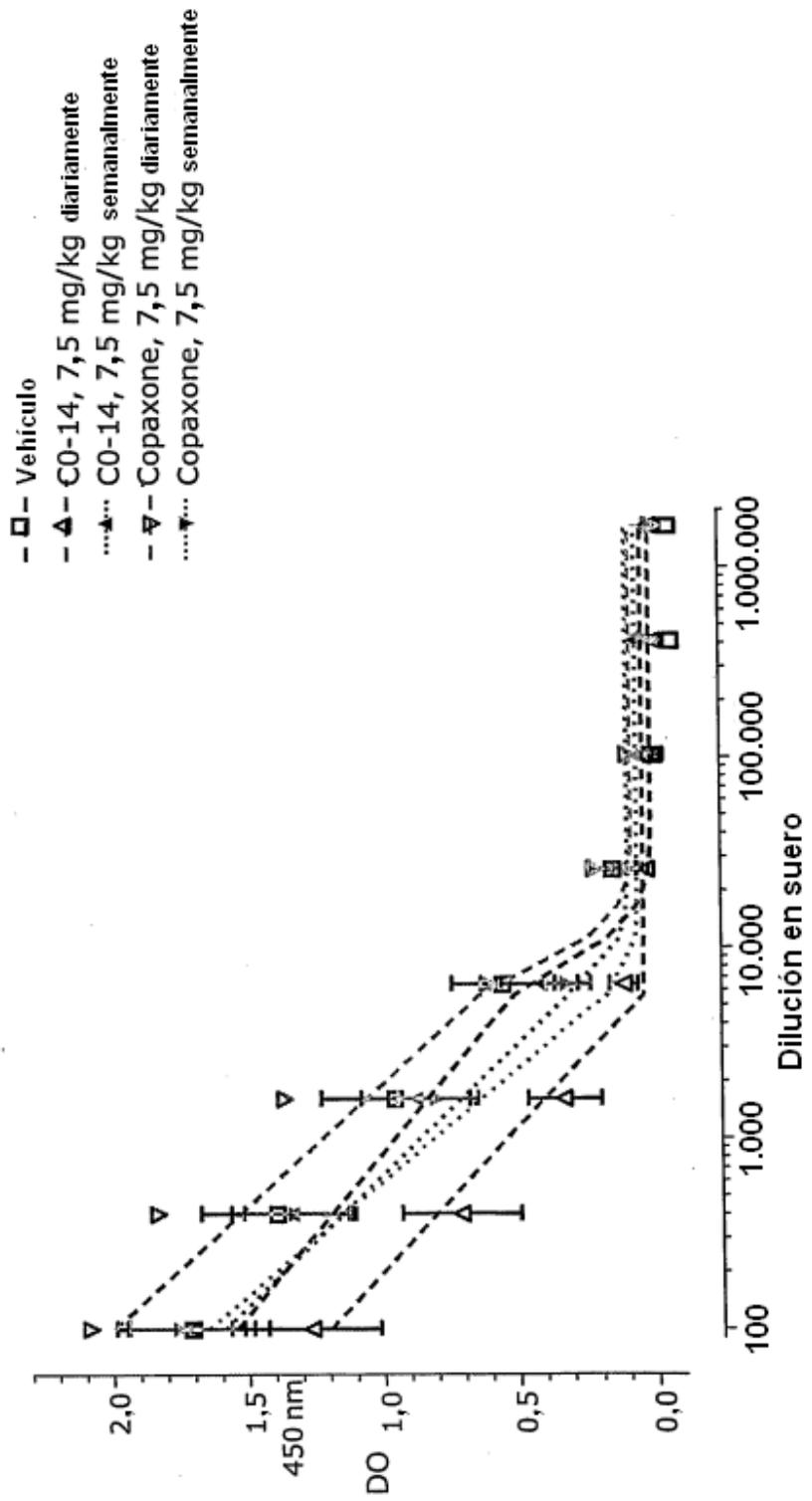


Figura 9

IT N° 6: proporción de IL-13/IFN y durante el periodo de tratamiento
 - Respuesta frente a $0,8 \mu\text{g/ml}$ de CO14 o Copaxone con 2×10^5 células/pocillo -

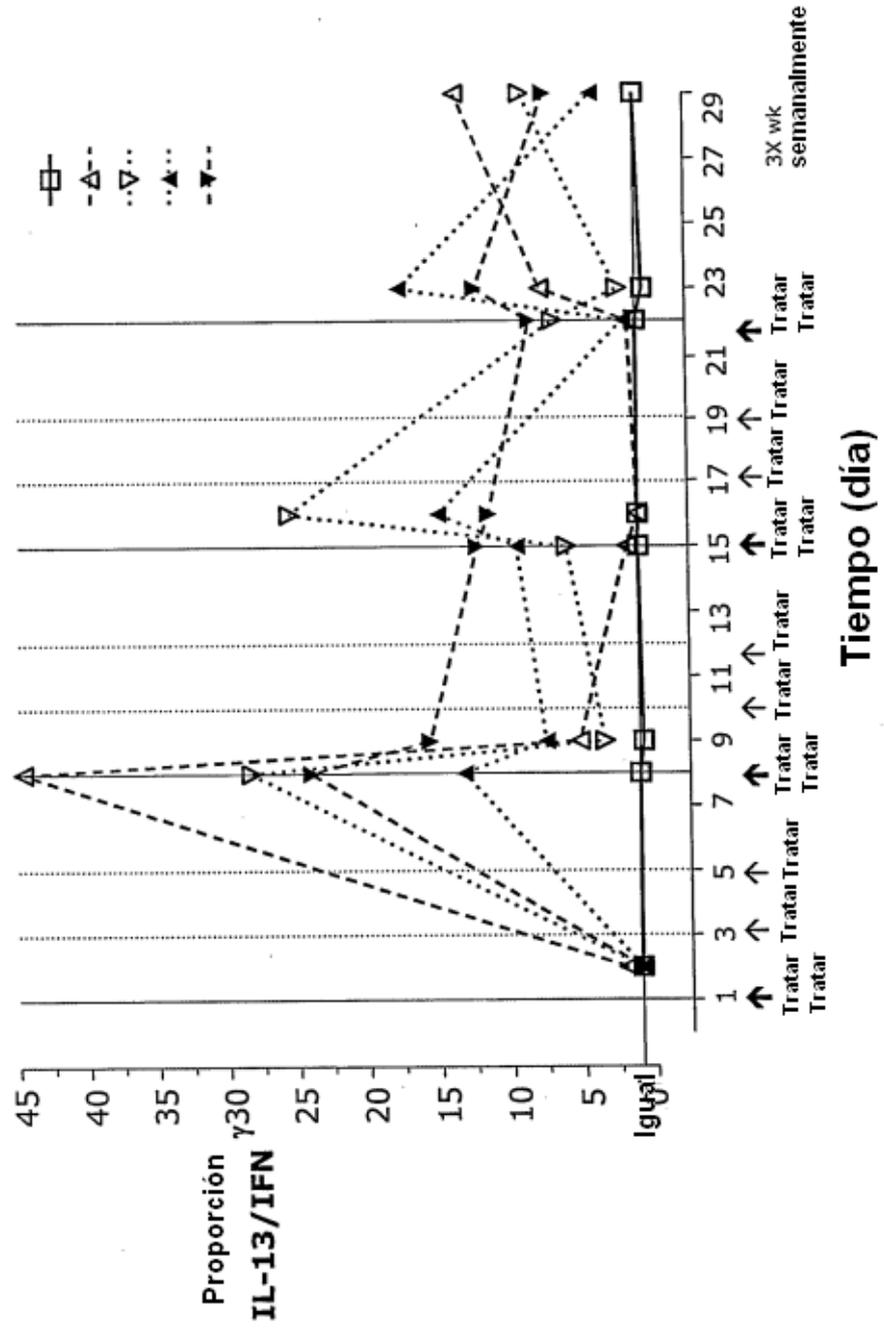


Figura 10

