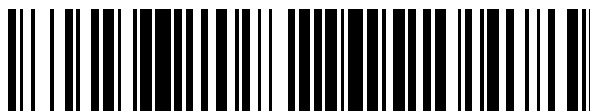


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 230**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**C07K 14/47** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2009** **E 09827022 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.12.2015** **EP 2488196**

54 Título: **Composición para el tratamiento de la esclerosis múltiple**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**11.04.2016**

73 Titular/es:

**LIFEBIO LABORATORIES LLC (100.0%)**  
**341 Raven Circle, Kent County**  
**Wyoming, DE 19934, US**

72 Inventor/es:

**BELOGUROV JR., ALEKSEY ANATOLIEVICH;**  
**PONOMARENKO, NATALIA ALEXANDROVNA y**  
**GABIBOV, ALEXANDR GABIBOVICH**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**Observaciones :**

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

**ES 2 566 230 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

Composición para el tratamiento de la esclerosis múltiple

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a oligopéptidos y proteínas de fusión y su uso en la inactivación de autoanticuerpos anti PMB específicos de epítipo (ESAMBPCAA) implicados en la unión y la degradación catalítica de PMB en el curso de la progresión de la esclerosis múltiple. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos oligopéptidos, combinaciones de dichos oligopéptidos y proteínas de fusión compuestas de los de los oligopéptidos anteriormente mencionados y su uso para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

**Antecedentes de la invención**

10 La esclerosis múltiple (de aquí en adelante en este documento abreviada como EM) es una enfermedad desmielinizante inflamatoria del sistema nervioso central humano con manifestaciones patofisiológicas heterogéneas y clínicas y una etiología muy complicada (Hafler et al., 2004. J. Clin. Invest. 113: 788-794; Kornek et al, 2003. Brain Res. Bull. 61: 321- 326.). La progresión de la enfermedad en los seres humanos conduce a la destrucción de la vaina de mielina que afecta, en último lugar, a la capacidad de que los nervios conduzcan los impulsos eléctricos (Schwartz, R. S., 1993, in Fundamental Immunology, ed. Paul, W. E. (Raven, New York), pp. 1033-1097).

La hipótesis de mimetismo vírico fue formulada para explicar la iniciación de esta patología (Merkler et al., 2006. J. Clin. Invest 116: 1254-1263.). En la actualidad, sin embargo, los verdaderos mecanismos impulsores de la enfermedad no han sido claramente identificados (Hohlfeld et al, 2004.Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 (Suppl. 2): 14599-14606).

20 Se ha demostrado que algunas de las células T proliferantes en pacientes con EM se dirigen hacia PMB (Allegretto et al., Science, 247, 718-721, 1990) y que las células T humanas pueden reconocer epítopos múltiples en la molécula de PMB (Richert et al., J. Neuroimmun 23, 55-66, 1989). El PMB también parece que es capaz de activar algunas células T sin la implicación de células presentes de antígeno (Altaian et al., Eur. J. Immun. 17, 1635-1640, 1987).

25 A pesar de la fuerte y comúnmente aceptada evidencia de la implicación de las células T inmunes en el desarrollo y la progresión de la EM en seres humanos y en los modelos animales experimentales de la enfermedad, las contribuciones de una respuesta a específica de células B frente a la destrucción de la vaina de mielina está mucho menos investigada (Klawiter et al., 2007. Curr. Neurol. Neurosci. Rep. 7: 231-238.; Nikbin et al., 2007. Int Rev. Neurobiol. 79: 13-42.).

30 Muchos datos indican que una porción significativa de casos de EM está caracterizada por la presencia en la sangre de autoanticuerpos dirigidos contra componentes de PMB (Reindl et al., 1999, Brain, 122, 2047-2056; Genain et al, 1999, Nat. Med. 5,170-175). Además, el análisis microscópico de alta resolución detectó autoanticuerpos específicos de mielina en la regiones de placas desmielinizantes en EM de seres humanos y un modelo de la enfermedad de EM en tífes, sugiriendo su contribución directa a la destrucción de la mielina (Genain et al., 1999, Nat. Med. 5,170-175). Aunque no se conozca el mecanismo de la función del autoanticuerpo en la patogénesis de la EM, fueron propuestos autoanticuerpos frente a PMB y glicoproteína de oligodendrocito de mielina (MOG) como biomarcadores para el pronóstico clínico de la EM (Berger et al., 2003, N. Engl. J. Med. 349, 139— 145.10). Inmunoglobulinas similares también se encontraron en ratones con encefalomiелitis alérgica experimental inducida (EAE), que es un modelo animal de la EM (Fritz et al., 1983, J. Immunol. 130, 191-194.). Se observaron mayores títulos de autoanticuerpos frente a PMB en el fluido cerebroespinal (FCE) de pacientes con formas activas de la EM (Warren et al., Ann Neurol 209:20-25, 1986). Clínicamente, la EM está caracterizada por fases de actividad de la enfermedad tales como recaídas agudas o progresión crónica y por fases de remisión clínica. La EM activa está asociada con mayores niveles de autoanticuerpos contra PMB que aparecen intratecalmente (Warren et al., Ann Neurol 209:20-25, 1986; Catz et al., Can J Neurol Sci 13:21-24, 1986). Estos anticuerpos se encuentran predominantemente en su forma libre (L) durante la recaídas agudas y predominantemente en la forma unida (U) cuando la enfermedad es insidiosamente progresiva (Warren et al., Ann Neurol 209:20-25, 1986). La terapia de pacientes con esclerosis múltiple con recaídas y remisiones (EMRR) con rituximab, un anticuerpo monoclonal, que reconoce selectivamente y consume linfocitos B CD20+, parece segura y eficaz en algún grado (Stiive, O. et al., Long-term B-lymphocyte depletion with rituximab in patients with relapsing- remitting multiple sclerosis., Arch Neurol. 2009 Feb; 66(2):259-61).

50 De acuerdo con los antecedentes científicos existentes, el enfoque de tratar la EM usando la inmunomodulación con toda la molécula de PMB, y numerosos fragmentos y homólogos representantes de péptidos de la proteína PMB y sus fragmentos, ha sido desarrollado durante la última década. Como es bien sabido, el PMB humano consiste en 170 restos de aminoácidos. En la literatura científica y de patentes, un fragmento de PMB se marca de acuerdo con la posiciones de su primer y último resto de aminoácido contado desde el extremo C de la secuencia completa de PMB (SEQ ID NO: 1).

En el documento WO 9612737, un número de péptidos (fragmentos de PMB humanos) que tienen "actividad con las células T" (es decir, la capacidad de influir en la actividad o funciones de las células T inmunes o sus

subpoblaciones) se proporcionaron para prevenir y tratar la EM y se ha descrito como adecuados para su uso terapéutico. Para revelar los epítomos reconocidos por las células T en PMB, 16 secuencias de péptidos cortas (cada una de aproximadamente 20 restos de aminoácidos de longitud) y tres más largas (82-100, 83-105, 141- 165) "que se solapaban" entre ellas han sido analizadas por su capacidad de estimular la proliferación *in vitro* de células de sangre periférica de pacientes con EM. La estructura del aminoácido de los péptidos proporcionados por los inventores corresponde a los siguientes fragmentos de PMB: 11-30; 11-29; 11-31; 83-105; 82-105; 82-104; 80-98; 82-102; 80-104; 80-102; 111-130; 111-129; 141-165; 101-125. Además, estos autores describen la combinación de los péptidos de la invención con otros péptidos conocidos de la técnica anterior que tienen actividad con las células T de PMB: 13 - 25; 31-50; 61-80; 82-92; 82-96; 82-97; 82-98; 82-100; 82-100; 83-100; 83- 101; 84-97; 84-100; 85-100; 86-105; 87-99; 87-99 [91K>A]; 88-100; 88-99; 82-100; 111-135; 122-140; 139-170; 141-160; 142-166; 142-168; 146-160; 153-170.

Wraith D.C. y co-autores proporcionan un método para seleccionar péptidos tolerogénicos capaces de unirse a moléculas de clase I o II de MHC sin otro procesamiento del antígeno y usando estos péptidos en una composición farmacéutica para el tratamiento y/o la prevención de la esclerosis múltiple. Un número de péptidos correspondientes a los fragmentos 1-24; 15-39; 30-54; 45-69; 60-84; 75-99; 90-114; 105-129; 120-144; 135-159; 150-170; 131- 145; 132-146; 133-147; 134-148; 135-149; 136-150; 137-151; 138-152; 139-153; 140- 154; 141-155; 142-156; 143-157; 144-158 de PMB humano han sido sintetizados y usados por estos autores para la identificación de epítomos de PMB humanos reconocidos por las células de la sangre periférica de pacientes de EM y entonces para el estudio de la capacidad de estos péptidos de unirse a moléculas MHC clase I o clase II. Un número de péptidos cortos, activos con respecto a la modulación de las funciones de las células T inmune, fueron seleccionados y reivindicados para el tratamiento de la EM: 134-148; 135-149; 136-150; 137-151; 138-152; 139-153; 140-154; 30-44; 80-94; 83-99; 81-95; 82-96; 83-97; 84-98; 110-124; 130-144; 131-145; 132-146; 133-147 (véase las solicitudes: EP1918298, US 11/979.224, WO 03/64464).

En el documento US2005209156, un péptido seleccionado a partir del fragmento de PMB (75-98) que tiene la secuencia de aminoácidos de AGAPVVHPPLAIVTPAT, incluyendo sus sustituciones, adiciones o deleciones, ha sido descrito para el tratamiento de la EM.

En la patente de EE.UU. No. 5858980, los fragmentos de PMB 84-102 y 143-168 fueron identificados como que contenían epítomos de PMB que reconocían células T inmunodominantes activas en el desarrollo de la EM y fueron proporcionados el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de ENPVVHFFKNIVTPRT (fragmento PMB 83-98) y sus análogos y AQGTLISKIFKLGGRD (fragmento PMB 146-160) así como una composición farmacéutica que comprende los péptidos.

Warren K.G. y coautores proporcionan péptidos sintéticos solubles, útiles para neutralizar autoanticuerpos anti - PMB, que tienen la secuencia de aminoácidos correspondiente a los siguientes restos de aminoácidos de PMB humano: 61-75; 64-78; 69-83; 75-95; 69-83; 80-97; 91-106; 84-93; 85-94; ,86-95; 87-96; 82-98. Estos péptidos se solapan con la secuencia de PMB de 61 a 106 de sus restos de aminoácidos (véase el documento WO 98/45327). Uno de los péptidos seleccionados (es decir, el PMB 75-95) mostró su capacidad de unirse a anticuerpos libres frente a PMB tanto *in vitro* como *in vivo* (en sangre de pacientes con EM). Por el contrario, el péptido que no se une a PMB 35- 58 no tuvo ningún efecto en los anticuerpos libres y unidos a PMB en pacientes con EM.

Algunos de los péptidos basados en PMB y las vacunas de ADN han sido evaluados en ensayos clínicos : El ADN terapéutico de Bayhill - vacuna BHT-3009 - que contiene el gen para toda la secuencia de PMB; los ligandos del péptido alterado GP77116 y NBI-5788 de Neurocrine Biosciences; la composición tolerogénica oral Myloral de Autoimmune(R) basados todos en la secuencia de PMB. Sin embargo, no se observó ningún éxito significativo en estas terapias debido a los serios efectos adversos o a la incapacidad de reducir la progresión de la EM (Hohlfeld et al., Proc Nat Acad. Sci U S A. 2004, October 5; 101(Suppl. 2): 14599-14606.). En la actualidad, el péptido sintético anteriormente mencionado con una secuencia que corresponde a los restos de aminoácidos 82-98 de PMB (DENPVVHFFKNIVTPRT) y codificado como PMB8298 está siendo ampliamente estudiado en la fase II de ensayos clínicos para el tratamiento de la esclerosis múltiple progresiva. El péptido a una dosis de 500 mg se administró intravenosamente cada seis meses. Se ha visto que los pacientes sensibles al tratamiento con PMB8298 son aquellos pacientes con los heliotipos de HLA DR2 y/o DR4 solos (Warren, K.G. et al, European Journal of Immunology, 2006, vol. 13, No 8, pp. 887-895).

El fragmento 84-102 de PMB anteriormente mencionado (patente de EE.UU. No. 5858980) se usó como ingrediente activo para la preparación para el tratamiento de la EM progresiva secundaria en la fase I de los ensayos clínicos. No fue detectado ningún tratamiento eficaz de acuerdo con la medida de la Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EEED), la prueba de clavijas de nueve hoyos o por nuevas lesiones diagnosticadas por imágenes de resonancia magnética (Goodkin, D. E. et al. Neurology 2000, vol. 54, pp. 1414- 1420)

Por lo tanto, la búsqueda y la selección de nuevos fragmentos de PMB, oligopéptidos con actividad terapéutica frente a EM, representa una tarea no trivial y las propiedades medicinales de cualquiera de dichos oligopéptidos con respecto al tratamiento de la EM no pueden ser predichas de antemano por ninguna persona experta en la técnica incluso bajo la base de extensivos análisis preclínicos *in vitro* y/o *in vivo*. La identificación y la selección de dichos

nuevos péptidos efectivos pueden lograrse a través del descubrimiento de nuevos mecanismos inmunopatológicos implicados en el desarrollo y la progresión de la EM.

5 Anteriormente, los inventores han presentado pruebas de que una pequeña fracción de autoanticuerpos anti-PMB que circulan en la sangre de los pacientes de EM muestran división proteolítica específica del sitio de la molécula de PMB y representa un nuevo mecanismo inmunopatológico de la destrucción de mielina y de la progresión de la EM (Ponomarenko et al. Immunology Letters 103, 2006, pp. 45-50).

10 De acuerdo con esto, el objeto de la presente invención es determinar nuevos oligopéptidos que sean capaces de neutralizar autoanticuerpos anti PMB específicos de epítipo implicados en la unión y la degradación catalítica del PMB en el curso de la progresión de la esclerosis múltiple (autoanticuerpos catalíticos anti PMB específicos de epítipo ESAMBPCAA) y nuevos métodos eficaces para tratar la EM usando estos nuevos oligopéptidos.

15 Este objeto se logra proporcionando nuevos restos de oligopéptido (oligopéptidos, proteínas de fusión compuestas de estos oligopéptidos y fragmentos de estos oligopéptidos), una composición farmacéutica que contiene dichos oligopéptidos y dichas proteínas de fusión, que neutraliza ESAMBPCAA. Sorprendentemente, a pesar de que ESAMBPCAA represente solo la menor fracción de autoanticuerpos anti PMB circulantes en la EM, los inventores de la presente invención han descubierto que los oligopéptidos que tienen secuencias que comprenden tan poco como 6 restos de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, que neutralizan ESAMBPCAA, muestran inesperadamente una alta eficacia en el tratamiento de la EM.

Otras ventajas y aspectos de la presente invención se volverán evidentes en la lectura de la siguiente descripción detallada de la invención.

## 20 **Compendio de la invención**

En una realización, la presente invención proporciona una combinación que comprende: (a) un oligopéptido (I) que tiene la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH (SEQ ID NO: 2), o su variante, en donde dicha variante contiene al menos 6 restos de aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2 y es capaz de unirse de ESAMBPCAA, y (b) al menos un oligopéptido seleccionado a partir del grupo que consiste en polipéptidos que tienen las secuencias GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO:3) y QGTLKIFKLGGDRSRGSPMARR (SEQ ID NO:4).

También se ha descrito un fragmento del oligopéptido I o un fragmento del oligopéptido I que comprende una o más alteraciones de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2, en donde dicho fragmento tiene al menos 6 restos de aminoácidos de longitud y es capaz de unirse con ESAMBPCAA.

30 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación definida anteriormente y un vehículo o diluyente o sistema de liberación de fármaco farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la presente invención proporciona un péptido de fusión compuesto de un oligopéptido de SEQ ID NO: 2, o su variante, como se define anteriormente, y un oligopéptido que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, unidas secuencialmente entre sí por medio de un enlazante no peptídico en cualquier orden, en donde la proteína de fusión comprende al menos un oligopéptido de SEQ ID NO: 2 o su variante.

Como se ha descrito, el péptido de fusión puede estar compuesto de un fragmento de una secuencia ID SEQ NO: 2, teniendo los fragmentos al menos 6 restos de aminoácidos de longitud y estando unidos secuencialmente entre sí por medio de un enlazante peptídico o no peptídico.

40 En otra realización de la invención, se proporciona una combinación o una proteína de fusión o una composición farmacéutica de la invención para su uso en un método para tratar la esclerosis múltiple, comprendiendo el método administrar una dosis eficaz de dicha combinación de un oligopéptido, o su fragmento, o un péptido de fusión, o una composición farmacéutica de la presente invención a un sujeto que lo necesite.

En una realización particular de la invención, el método para tratar la esclerosis múltiple comprende: exponer la sangre de un paciente que padece esclerosis múltiple a una dosis eficaz de un oligopéptido, o un fragmento, o un péptido de fusión o una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención.

En otra realización, se proporciona el uso de una combinación o una proteína de fusión de la presente invención para la fabricación de un medicamento para tratar la esclerosis múltiple.

## **Breve descripción de los dibujos**

50 La Figura 1 muestra la secuencia de aminoácidos de la molécula PMB intacta humana. Las letras mayúsculas representan restos de aminoácidos en el PMB humano. También se representan las correspondientes partes de la secuencia de aminoácidos de PMB que corresponde a la secuencia de aminoácidos del oligopéptido (SEQ ID NO: 2) de la invención así como de oligopéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4. Estas partes de la secuencia de aminoácidos de PMB se trazan con la línea negra.

La Figura 2 muestra la degradación de PMB en presencia de ESAMBPCAA y la inhibición de la degradación en presencia de diferentes fragmentos del péptido PMB (la fila horizontal de las figuras corresponde a las posiciones de los primeros y últimos restos de aminoácidos contados a partir del extremo C de la secuencia completa de PMB).

5 La Figura 3 muestra la inhibición de la actividad de ESAMBPCAA por diferentes oligopéptidos sintéticos que contienen la secuencia de aminoácidos del fragmento de PMB 43-68. Eje horizontal - concentración de oligopéptidos usados en el ensayo inhibitorio; Eje vertical - actividad de ESAMBPCAA relativa (la actividad de ESAMBPCAA en los ensayos control (PBS) fue considerada como 1). Los códigos de los oligopéptidos se indican en el Ejemplo 3.

10 La Figura 4 muestra la supresión de la puntuación de MDS de ratas DA que padecen Encefalomiелitis Alérgica Experimental y que fueron tratadas con los oligopéptidos de la invención y la proteína de fusión. Supresión de la puntuación de MDS en la EAE en curso en ratas DA el día 24. Puntuación clínica máxima en cada grupo de ratas, media y 95% de intervalo de confianza.

La Figura 5 muestra la supresión de la puntuación de MDS en EM experimental en curso (Infección con el virus de Theiler) con combinaciones de oligopéptidos.

### Descripción detallada de la invención

#### 15 Definiciones

Según se usa en este documento, el término "oligopéptido" se refiere a cualquier molécula que contiene hasta aproximadamente 20 restos de aminoácidos unidos por enlace(s) péptido(s), es decir el término "oligopéptido" significa un polipéptido de hasta 20 aminoácidos de longitud. El término "oligopéptido" u "oligopéptidos" abarca oligopéptidos así como sus sales. Sales adecuadas incluyen sales de sodio o potasio o sales de acético o fosfato.

20 Como se usa es esta descripción, el término "oligopéptido" abarca un "oligopéptido" que tiene la secuencia de aminoácidos especificada y sus variantes funcionales. Las variantes funcionales incluyen cualquier fragmento del oligopéptido de la secuencia especificada, en donde el fragmento tiene de 6 a 20 aminoácidos de longitud a condición de que retenga la capacidad de unión con ESAMBPCAA.

25 Como se usa es esta descripción, el término "fragmento" de oligopéptido de la presente invención comprende al menos aproximadamente 6, preferiblemente al menos aproximadamente 8, preferiblemente al menos aproximadamente 12, más preferiblemente al menos aproximadamente 14, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 16 o más restos de aminoácidos contiguos.

30 También se contemplan las variantes del oligopéptidos de la presente invención obtenidas alternando la secuencia de aminoácidos del oligopéptido parental. Dichas alteraciones pueden comprender una o más sustituciones, deleciones, inserciones o adiciones de aminoácidos a condición de que la variante resultante comprenda al menos 6 aminoácidos contiguos de la secuencia parental y sea capaz de la unión con ESAMBPCAA.

35 Como se usa es esta descripción, la expresión "proteína de fusión" o "péptido de fusión" se refiere a un oligopéptido o su fragmento fusionado a otro oligopéptido o a su fragmento, estando unido cada resto fusionado al otro directamente por un enlazante peptídico (el grupo amino (NH<sub>2</sub>) del extremo N de un oligopéptido unido al grupo ácido carboxílico (COOH) del extremo C del otro oligopéptido o su fragmento) o, de forma alternativa, por medio de un enlazante. El "enlazante" puede ser seleccionado a partir del "enlazante peptídico" o "enlazante no peptídico". Un "enlazante peptídico" puede consistir en una secuencia que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 aminoácidos, que están linealmente unidos a cada otro por un enlace peptídico y que puede incluir opcionalmente una secuencia para un sitio de división de proteasa. La expresión "enlazante no peptídico" como se usa en este documento se refiere a cualquier resto enlazante que tiene dos o más grupos reactivos diferentes al enlazante peptídico. El enlazante preferido es un polímero no peptídico. El polímero no peptídico usado como enlazante de la invención es un polímero que lleva grupos reactivos en ambos extremos, que son capaces de unirse independientemente a grupos reactivos de un oligopéptido, en donde los ejemplos de grupo reactivo del oligopéptido incluyen un grupo terminal amino o un grupo terminal carboxilo, un resto de lisina, un resto de histidina o un resto de cisteína. Los grupos reactivos del polímero incluyen un grupo aldehído, un grupo propiónico aldehído, un grupo butil aldehído, un grupo maleimida, un grupo cetona, un grupo vinil sulfona, un grupo tiol, un grupo hidrazida, un grupo carbonildimidazol (CDI), un grupo carbonato de nitrofenilo (CNF), un grupo trisilato, un grupo isocianato y derivados de succinimida. Ejemplos de derivados de succinimida incluyen propionato de succinimidilo (SPA), ácido butanoico de succinimidilo (ABS), carboximetilato de succinimidilo (CMS), succinamida de succinimidilo (SAS), succinato de succinimidilo (SS), carbonato de succinimidilo y N-hidroxi succinimida (NHS). Los grupos reactivos en los extremos de un polímero no peptídico pueden ser iguales o diferentes. Por ejemplo, el polímero puede tener un grupo maleimida en un extremo y un grupo aldehído en el otro extremo. Los enlazantes de bajo peso molecular incluyen carbodiimida o glutaraldehído.

55 Como se usa es esta descripción, el término "ESAMBPCAA" se refiere a una pequeña fracción de moléculas de inmunoglobulina autólogas circulantes en la sangre de pacientes con EM que se une a la proteína básica de mielina y cataliza la división proteolítica específica del sitio de la molécula de PMB.

Como se usa en esta descripción, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a administrar una terapia, un agente, un compuesto o una composición a un sujeto que padece una enfermedad para reducir, mejorar o eliminar al menos uno de los síntomas de la condición que se trate como se evalúa en la atención médica o por cualquier experto en la técnica mediante cualquier método convencional. Como se usa es esta descripción, los términos 'neutralización, inactivación, inhibición' significan la reducción de la actividad específica como se mide con el sistema de ensayo apropiado especificado.

Como se usa en la descripción, "cantidad eficaz" es una cantidad de un oligopéptido, su fragmento, o una proteína de fusión como se describe anteriormente, que bajo su administración, es capaz de reducir, mejorar o eliminar al menos un síntoma de la esclerosis múltiple. Además, cantidad eficaz significa una cantidad capaz de reducir o prevenir la condición de la esclerosis múltiple.

Basado en el trabajo previo de los investigadores (Belogurov at al., The Journal of Immunology, 2008, 180: 1258-1267), fue descubierta una nueva clase de autoanticuerpos implicados en el reconocimiento y la degradación de la Proteína de Mielina Básica en pacientes con EM. Estos anticuerpos catalíticamente activos representan una fracción muy minoritaria de los anticuerpos anti PMB, sin embargo, se encontró que su actividad catalítica se correlacionaba con el estado progresivo de la EM. Así, la cuantificación del autoanticuerpo anti PMB medida por la proteólisis de PMB fue sugerida como un nuevo biomarcador de EM. Sorprendentemente, a pesar de que ESAMBPCAA representa solo una fracción menor de autoanticuerpos anti PMB circulantes en la EM, los autores de la presente invención han descubierto que cierto oligopéptido, que tiene una fuerte actividad neutralizante sobre ESAMBPCAA, muestra inesperadamente una alta eficacia en el tratamiento de EM tanto en seres humanos como en modelos animales establecidos de la esclerosis múltiple. Se describe en este documento un oligopéptido que tiene la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH (SEQ ID NO: 2). Esta secuencia corresponde a la secuencia de aminoácidos 46-62 de la PMB humana y se refiere de aquí en adelante en este documento como "PMB 46-62". Dicho oligopéptido es capaz de inhibir ESAMBPCAA.

También se describen variantes funcionales del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH. En base al ESAMBPCAA, se establecieron ensayos de inhibición usando una serie de formas truncadas del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH, el número más pequeño de aminoácidos requerido para que el fragmento de oligopéptido retenga su actividad biológica. De acuerdo con esto, la variante funcional de un oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH debe retener al menos 6 restos de aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2. Basado en la descripción dada, sería fácilmente evidente para los expertos en la técnica determinar, empíricamente, qué variación puede hacerse respecto a la secuencia del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH sin afectar a la actividad inhibitoria de ESAMBPCAA del péptido.

También se describen dos oligopéptidos que tienen las secuencias GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO: 3) y QGTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO 4), respectivamente. Estos péptidos contienen epítomos de PMB muy conocidos en la técnica, reconocidos por células T inmunes y/o por autoanticuerpos anti PMB "convencionales" (no proteolíticos) de pacientes con EM. Los inventores han encontrado inesperadamente que estos dos oligopéptidos de SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4 potencian de forma sinérgica la eficacia del oligopéptido (SEQ ID NO: 2) en el tratamiento de la esclerosis múltiple en seres humanos y previene (o reduce) el desarrollo del modelo animal establecido de la EM, la encefalomielitís alérgica experimental (EAE). A pesar de que tiene baja actividad inhibitoria frente a ESAMBPCAA, cuando se compara con el oligopéptido (SEQ ID NO: 2), estos dos oligopéptidos potencian el efecto terapéutico del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH cuando se co-administran a animales y a seres humanos. Sin pretender vincularse a ninguna teoría en especial, puede asumirse que esto es debido al hecho de que la modulación simultánea de diversos mecanismos inmunes – la función de las células T inmunes y la hidrólisis mediada por PMB del auto anticuerpo pueden proporcionar la multiplicación del efecto terapéutico. De acuerdo con esto, se proporciona una composición farmacéutica que contiene el oligopéptido de SEQ ID NO: 2, o sus variantes funcionales y al menos uno de los dos oligopéptidos de las secuencias SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 4.

En otra realización de la presente invención, los oligopéptidos de SEQ ID NO: 2, o sus variantes funcionales se unen entre sí para formar un péptido de fusión. Dicho péptido de fusión comprende múltiples copias del resto inactivante de ESAMBPCAA.

En otra realización de la presente invención, el oligopéptido (SEQ ID NO: 2) o sus análogos funcionales y el oligopéptido (SEQ ID NO: 3) o sus fragmentos y el oligopéptido (SEQ ID NO: 4) se unen a lo unido en cada otra en cualquier orden para formar el péptido de fusión. Así, un péptido de fusión de la presente invención puede contener múltiples copias repetidas de restos inactivantes de ESAMBPCAA del oligopéptido (SEQ ID NO: 2) y los epítomos de los oligopéptidos (SEQ ID NO: 3) y (SEQ ID NO: 4).

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de un oligopéptido (SEQ ID NO: 2) o su variante funcional y una o ambas de SEQ ID NO: 3 y 4, o la proteína de fusión y un vehículo o un diluyente y / o un sistema de liberación de fármaco farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables son muy conocidos en la técnica, e incluyen por ejemplo solución salina normal. Los ejemplos de sistema de liberación de fármacos son también muy conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, liposomas o nanopartículas poliméricas sintéticas. Los oligopéptidos de la presente invención pueden prepararse de acuerdo con los métodos de síntesis de oligopéptidos

existentes que tienen la fórmula de acuerdo con la descripción proporcionada. Las proteínas de fusión pueden producirse mediante tecnología de ADN recombinante. Conociendo la secuencia de las proteínas de fusión seleccionadas, como es descrita en la presente invención, la secuencia de ADN adecuada puede producirse mediante métodos convencionales y conocidos para sintetizar secuencias de ADN. Las secuencias de ADN así producidas pueden entonces clonarse en los vehículos de clonación adecuados y usarse para transformar una célula huésped adecuada para producir el péptido recombinante. Toda la metodología mencionada hasta ahora es convencional y muy conocida por los expertos en la técnica.

La invención proporciona además una combinación, composición farmacéutica o proteína de fusión como se define para su uso en un método para tratar la esclerosis múltiple, comprendiendo el método administrar una dosis eficaz de una combinación, péptido de fusión o una composición farmacéutica que contiene la misma a un sujeto que lo necesite. La dosis terapéutica de una combinación o proteína de fusión para el tratamiento de la EM puede ser de aproximadamente 0,01 mg por kilogramo de peso corporal a aproximadamente 10,0 mg por kilogramo de peso corporal; la composición puede administrarse intravenosamente, subcutáneamente, intratecalmente. En un ejemplo de la presente invención, la composición se administra oralmente, para actuar sobre la denominada "ruta de liberación de la mucosa". La composición puede administrarse como una dosis individual o secuencial, como pueda requerirse.

Aunque esta invención se describa en detalle con particular referencia a sus realizaciones preferidas, los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, la invención.

### Ejemplos

**Ejemplo I.** Detección de moléculas de inmunoglobulina autólogas de ESAMBPCAA que se unen a la proteína básica de mielina y catalizan la división proteolítica específica del sitio de la molécula de PMB en sangre de pacientes con esclerosis múltiple

La purificación y caracterización del autoanticuerpo anti PMB se hicieron usando el suero de 24 pacientes de EM (17-54 años, edad promedio 32 años) que no habían sido tratados con fármacos anti-inflamatorios esteroideos o no esteroideos. El diagnóstico de EM fue verificado y confirmado con la EEED (Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EEED)). Los valores fueron calculados de acuerdo con la clasificación de la progresión de la enfermedad de Poser, usando datos clínicos, inmunológicos y MPJ (Poser et al., Clin Neurol Neurosurg 2001; 103:1-11.). Las inmunoglobulinas (IgG) fueron aisladas a partir de suero mediante precipitación con sulfato de amonio tres veces al 50% seguido de cromatografía de afinidad sobre la proteína G-Sefarosa (Amersham Biosciences). Las fracciones que contenían IgG fueron entonces dializadas frente a PBS o TBS con NaN<sub>3</sub> al 0,05% a 4°C. La cantidad de IgG fue cuantificada y estandarizada mediante ELISA. La pureza de IgG fue evaluada mediante electroforesis seguido por tinción de plata, inmunotransferencia bajo condiciones no reductoras y por espectrometría de masas de desorción/ionización laser de superficie potenciada (SELDI). Las IgG fueron después separadas por cromatografía de afinidad de antígeno en una columna con PMB inmovilizado sobre NHS-Sefarosa (Amersham) y su pureza fue evaluada por electroforesis seguido por la técnica de tinción de plata.

La PMB se preparó a partir de cerebro bovino de acuerdo con Miller (Miller et al., 1996. Experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse. In: Current Protocols in Immunology; J. E. Coligan, ed. Wiley, New York, p. SI 9.) La proteína resultante fue purificada por HPLC de fase inversa en una columna C4 10/250 (Mashery-Nagel, Alemania).

La hidrólisis de PMB por los autoanticuerpos anti PMB fue evaluada como sigue: Fueron incubados a 37 °C durante 14 h anticuerpos purificados (0,1-1 µg) en un volumen final de 12,5 µl de PBS, NaN<sub>3</sub> al 0,02% que contenía 1-2 µg de PMB. Las muestras se mezclaron con tampón de Laemmli. El grado de degradación de PMB fue visualizado mediante SDS-PAGE en sistemas tampón de Tris-glicina y Tricina. Para el ensayo de degradación de PMB cuantitativo, se incubó PMB (10 µM) a 37 °C con anticuerpos (60 nM) en 0,1 ml de PBS, NaN<sub>3</sub> al 0,02% durante 12 h. La reacción se paró añadiendo TFA al 10% hasta pH 2,5. Las muestras se sometieron a cromatografía después en una columna C4 4.0/150 (Waters). La cantidad de PMB no dividido fue calculada por absorbancia monitoreando a 280 nm.

Los resultados se representan en la Tabla 1.

Tabla 1: Estatus clínico de 24 pacientes con esclerosis múltiple y las velocidades correspondientes de la hidrólisis de BMP por ESAMBPCAA

| Paciente N° | Tipo de enfermedad | Actividad de ESAMBPCAA (pmol/min/nmol) | Puntuación (EEED) |
|-------------|--------------------|--|-------------------|
| EM1         | PS                 | 77,6±7,1                               | 5,0               |
| EM2         | PS                 | 84,3±6,9                               | 4,5               |
| EM3         | PS                 | 63,0±5,8                               | 6,0               |

|      |     |          |     |
|------|-----|----------|-----|
| EM4  | RR  | 45,6±6,0 | 2,0 |
| EM5  | RR  | 5,9±4,8  | 1,0 |
| EM6  | RR  | 2,1±4,5  | 1,0 |
| EM7  | RR  | 5,3±5,0  | 2,0 |
| EM8  | RR  | 3,0±3,9  | 1,5 |
| EM9  | PS  | 71,2±5,5 | 3,0 |
| EM10 | PS  | 4,5±4,1  | 2,5 |
| EM11 | RR  | 1,5±6,0  | 0   |
| EM12 | PS  | 79,0±8,9 | 4,0 |
| EM13 | pRR | 2,0±4,0  | 0   |
| EM14 | PP  | 44,9±5,0 | 3,0 |
| EM15 | PP  | 22,3±4,5 | 3,0 |
| EM16 | RR  | 29,3±5,3 | 2,5 |
| EM17 | RR  | 15,1±4,1 | 3,0 |
| EM18 | RR  | 4,3±3,9  | 1,5 |
| EM19 | RR  | 6,5±4,0  | 2,0 |
| EM20 | PS  | 15,0±5,9 | 3,0 |
| EM21 | PS  | 1,3±3,7  | 2,0 |
| EM22 | RR  | 39,2±7,2 | 3,0 |
| EM23 | PS  | 29,1±6,2 | 3,0 |
| EM24 | RR  | 4,3±3,5  | 1,5 |

PS – progresiva secundaria; PP- progresiva primaria; RR con recaídas y remisiones.

5 Destacadamente, el nivel de la división mediado por PMB del ESAMBPCAA se correlacionó con el intervalo de la Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EEED)) de los pacientes ( $r^2 = 0,85$ ,  $P < 0,001$  en el intervalo de Spearman, correlación). Los niveles más altos de la catálisis mediada por el anticuerpo ocurrieron en los casos con alta EEED) (de 3,0 a 6,0), en su mayor parte en el estado de progresión o exacerbación en el curso de las recaídas y las remisiones (RR) de la enfermedad.

Ejemplo 2. Selección de secuencias inhibitorias de ESAMBPCAA.

10 Doce fragmentos de ADN que codificaban péptidos de PMB humanos que representaban diferentes partes de la molécula de PMB (1-27, 17-41, 25-54, 43-68, 53-81, 81-103, 91-114, 107-132, 123- 140, 130-156, y 146-170) fueron preparados mediante PCR con cuatro sobrelapantes correspondientes al enlazante (SGGGG)3S. Los productos finales de la PCR fueron clonados en marco dentro del plásmido pET32CH usando los sitios de restricción NcoI y BamHI. Los productos de expresión de estos plásmidos que contenían Trx fusionado a péptidos PMB fueron usados para el análisis de división. El plásmido que codificaba Trx (Tioredoxina) con el enlazante (SGGGG) 3S fue designado el control. Las proteínas marcadas con His solubles recombinantes fueron obtenidas por expresión de  
15 *Escherichia coli* y fueron aisladas mediante absorción en una columna Talon SuperFlow (BD Biosciences), seguido por cromatografía de intercambio catiónico en una columna Mono S (Amersham Pharmacia) a pH 5,0 y posterior cromatografía de exclusión por tamaños en una columna Superdex 75 GL 10\_300 (Amersham Pharmacia) en tampón  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  150 mM.

20 El modelo de hidrólisis de PMB mediante ESAMBPCAA purificado a partir de plasma de ratones SJL que padecen EAE, inducida mediante inyección de PMB en adyuvante Freund completo, fue evaluado mediante SDS-PAGE como se especifica en el Ejemplo 1 en presencia de 0,5  $\mu\text{M}$  de diferentes péptidos PMB. Los resultados se representan en la Figura 2. El fragmento de PMB 43-68, que contiene la secuencia GGDRGAPKRGSGKDSHH, muestra una potente actividad inhibitoria en la hidrólisis de PMB mediada por el auto anticuerpo anti PMB.



Ejemplo 3. Supresión de la hidrólisis de PMB específica mediada por el auto anticuerpo mediante oligopéptidos sintéticos que contienen la secuencia de aminoácidos del fragmento de PMB 43-68.

Para identificar la secuencia de aminoácidos requerida para la inhibición eficiente de la actividad de ESAMBPCAA fueron sintetizados las siguientes series de péptidos:

5 Tabla 2:

|     | Secuencia de aminoácidos   | Número de restos de aminoácidos | Posición en la secuencia de PMB |
|-----|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| A1  | RFFGGDRGAPKRGSGKDSHHPARTAH | 26                              | 43-68                           |
| A2  | FGGDRGAPKRGSGKDSHHPAR      | 21                              | 45-65                           |
| A3  | GGDRGAPKRGSGKDSHH          | 17                              | 46-62                           |
| A4  | GAPKRGSGKDSHH              | 13                              | 50-62                           |
| A5  | GGDRGAPKRGS                | 11                              | 46-56                           |
| A6  | PKRGSGKDSHH                | 11                              | 52-62                           |
| A7  | GGDRGAPKR                  | 9                               | 46-54                           |
| A8  | RSGKDSHH                   | 9                               | 54-62                           |
| A9  | GGDRGAP                    | 7                               | 46-52                           |
| A10 | SGKDSHH                    | 7                               | 56-62                           |
| A11 | GGDRG                      | 5                               | 46-50                           |
| A12 | KDSHH                      | 5                               | 58-62                           |

10 Los oligopéptidos fueron analizados para estudiar la potencia para inhibir la hidrólisis de PMB mediada por ESAMBPCAA usando ESAMBPCAA recogido de un paciente de EM progresiva como se especifica en el Ejemplo 1. Se mezclaron diferentes concentraciones de péptidos de ensayo con ambos anticuerpos (30 nM) y PMB (4 µM) en TBS con Na<sub>3</sub>N al 0,1% y CaCl<sub>2</sub> 10 mM. Las muestras se incubaron durante 16 h a 37°C y se analizaron en SDS PAGE al 15%. Los geles se tiñeron con Coomassie y se analizaron mediante densitometría con el software TOTALLAB 2.01 (Nonlinear Dynamics, Ltd.; Newcastle upon Tyne, Reino Unido). Los datos presentados en la Figura 3 muestran que a partir de los oligopéptidos analizados el oligopéptido A3, que comprende la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH, muestra la actividad inhibitoria más potente, teniendo menos restos de aminoácidos que los oligopéptidos A1 y A2. El acortamiento de las longitudes del oligopéptido a menos de 6 aminoácidos conduce a la pérdida completa de la actividad inhibitoria de ESAMBPCAA.

Ejemplo 4. Supresión de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB mediante oligopéptidos sintéticos que contienen la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH, sus fragmentos y sus proteínas de fusión.

20 Las muestras de suero recogidas a partir de 5 pacientes que padecían EM progresiva fueron cuantificadas para detectar la hidrólisis de PMB mediada por ESAMBPCAA como se especifica en el Ejemplo 1 en presencia de las siguientes sustancias:

A1 - control negativo: solución salina de fosfato tamponada (PBS);

A2 – acetato de glatiramer (Copaxone, Teva Pharmaceuticals), 100 nM;

25 A3- oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH 100 nM;

A4- oligopéptido APKRGSGKDSH (un fragmento del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH – 100 nM);

A5-oligopéptido SGKDS (un fragmento del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH)- 100 nM;

A6- proteína de fusión

RGAPKRGSGKRGAP;KRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGK (que contiene la secuencia RGAPKRGSGK repetitiva, cuya secuencia representa el fragmento del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH - 100 nM);

5 Los productos A3, A4 y A5 han sido sintetizados por el laboratorio de síntesis orgánica en fase sólida (Shemyakin Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS). El producto A6 ha sido sintetizado usando el sistema de traducción sin células ABNOVA personalizado. (www.abnova.tw).

Los resultados del ensayo se representan en la Tabla 3 a continuación.

10 Tabla 3. Influencia de diferentes preparaciones analizadas sobre la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB (pmol/min/nmol)

|          | Paciente 1 | Paciente 2 | Paciente 3 | Paciente 4 | Paciente 5 |
|----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| A1 (PBS) | 77,6 ±7,1  | 84,3 + 6,9 | 63,0 + 5,8 | 45,6+6,0   | 79,0+8,9   |
| A2       | 62,5+7,2   | 72,6+7,7   | 51,2+3,5   | 47,7+7,9   | 65,7+5,4   |
| A3       | 11,2+3,5   | 17,3+4,1   | 14,4+2,2   | 14,5+4,4   | 16,9+7,3   |
| A4       | 12,7+3,6   | 15,6+2,9   | 14,3+4,4   | 15,8+4,9   | 13,3+5,9   |
| A5       | 57+4,1     | 59,7+5,7   | 44,2+6,6   | 45,5+3,8   | 55,7+6,1   |
| A6       | 7,7+3,3    | 22,3+4,2   | 20,1+3,9   | 21,5+6,6   | 5,0+1,8    |

15 Así, el oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH, el oligopéptido APKRGSGKDSH (un fragmento de oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH con 11 aminoácidos de longitud y la proteína de fusión que contiene la secuencia RGAPKRGSGK repetitiva, cuya secuencia representa el fragmento del oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH todos tienen un potente efecto supresor de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB.

Ejemplo 5

Tratamiento de EAE por el oligopéptido de la invención y la proteína de fusión

20 La Encefalomieltis Alérgica Experimental (EAE) en ratas DA es un modelo animal bien establecido de la EM. El trabajo con los animales fue realizado en la sucursal de Pushchino del Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences. Se anestesiaron ratas hembra DA de 10-14 semanas de edad y se les inyectaron intradérmicamente en la base de la cola 100 µl de inóculos que contenían 50 mg de MOG de rata en solución salina emulsionada (1:1) con CFA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) que contenía 200 mg de *Mycobacterium tuberculosis* (cepa H 37 RA; Difco Laboratories, Detroit, MI). El día 8 después de una segunda inmunización, las ratas fueron divididas en 6 grupos (6 ratas por grupo) y se trataron durante 5 días (días 8-12) de acuerdo con el siguiente programa:

Grupo 1- oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH a 120 µg al día por administración intranasal

Grupo 2- oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH a 50 µg al día por administración intranasal

Grupo 3- proteína de fusión RGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGK a 120 µg al día por administración intranasal

30 Grupo 4- oligopéptido APKRGSGKDSH a 120 µg al día por administración intranasal

Grupo 5- Acetato de glatiramer (Copaxone, Teva) a 120 µg al día por aplicación intranasal

Grupo 6- Control (PBS)

35 Los síntomas clínicos (la puntuación de MDS) de la enfermedad fueron evaluados diariamente en la siguiente escala gradual: grado 0, sin signos clínicos; grado 1, tambaleo al caminar medio o cola flácida; grado 2, tambaleo al caminar severo; grado 3, parálisis de los miembros posteriores moderada; y grado 4, parálisis de los miembros posteriores severa. Las muestras de sueros recogidas de los animales fueron cuantificadas por hidrólisis de PMB mediada por ESAMBPCAA como se especifica en el Ejemplo 1.

Los resultados se representan en la Figura 4 y la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4. Influencia del tratamiento en ratas de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB (Promedio para 6 animales; pmol/min/nmol)

| Grupo Experimental | Día 8    | Día 16    | Día 24   |
|--------------------|----------|-----------|----------|
| Grupo 1            | 42,8±5,5 | 17,3±5,4  | 15,1±3,9 |
| Grupo 2            | 43,1±6,4 | 35,6±4,9  | 46,3±2,9 |
| Grupo 3            | 45,7±6,5 | 48,1±7,4  | 39,4±4,6 |
| Grupo 4            | 49,3±4,9 | 45,9±7,1  | 45,1±6,3 |
| Grupo 5            | 51,4±8,2 | 55,4±5,7  | 62,2±5,7 |
| Grupo 6            | 47,6±6,1 | 61,3±7,35 | 75,2±8,3 |

5 Por tanto, tanto la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB como la puntuación de MDS son lo más eficientemente suprimidas por el oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH en la manera dependiente de la dosis. La proteína de fusión RGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGK y el oligopéptido APKRGSGKDSH son también activos en la supresión de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB y la puntuación de MDS.

#### 10 Ejemplo 6

Tratamiento de la EM experimental (Infección por el virus de Theiler) con los oligopéptidos de la invención y combinaciones de oligopéptidos

15 La cepa BeAn de TMEV usada en este estudio fue generada y propagada en células BHK-21 cultivadas en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con suero de becerro donante al 7,5%. Para la infección i.c., fueron inyectados 30 µl de solución del virus (de 0,2 x 10<sup>6</sup> a 6 x 10<sup>6</sup> PFU) dentro del hemisferio cerebral derecho de ratones SJL de 6 a 8 semanas (8 animales por grupo) anestesiados con isoflurano. Los síntomas clínicos (la puntuación de MDS) de la enfermedad fueron evaluados semanalmente en la siguiente escala gradual: grado 0, sin signos clínicos; grado 1, tambaleo al caminar medio o cola flácida; grado 2, tambaleo al caminar severo; grado 3, parálisis de los miembros posteriores moderada; y grado 4, parálisis de los miembros posteriores severa. Las muestras de suero  
20 recogidas de los animales fueron cuantificadas para la hidrólisis de PMB mediada por ESAMBPCAA como se especifica en el Ejemplo 1. Los oligopéptidos GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO: 3) y QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO: 4) se conocen en la técnica que son capaces de modular la actividad de las células T inmunes en EM, conduciendo a alguna eficacia en el tratamiento de la EM. El día 14, los siguientes ratones de infección fueron divididos en 6 grupos (30 ratones por grupo) y fueron tratados durante 10 días  
25 (días 14-24) de acuerdo con el siguiente programa:

Grupo 1- Control -PBS diario por inyección subcutánea

Grupo 2- Copaxona diaria 30 µg diario por inyección subcutánea

Grupo 3- Oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH a 20 µg diario por inyección subcutánea

Grupo 4- Oligopéptido GFGYGGRASDYKSAHK a 20 µg diario por inyección subcutánea

30 Grupo 5- Oligopéptido QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR a 20 µg diario por inyección subcutánea

Grupo 6- Oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH a 20 µg y oligopéptido GFGYGGRASDYKSAHK a 20 µg diario por inyección subcutánea

Grupo 7- Oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH a 20 µg y oligopéptido GFGYGGRASDYKSAHK a 20 µg y oligopéptido QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR a 20 µg diario por inyección subcutánea

35 Grupo 8 - Oligopéptido GFGYGGRASDYKSAHK a 20 µg y oligopéptido QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR a 20 µg diario por inyección subcutánea

Los resultados se representan en la Figura 5 y en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5. Influencia del tratamiento realizado en la manifestación de la enfermedad y velocidades de la hidrólisis de PMB mediada por auto anticuerpo.

| Grupo   | % Animales afectados con la enfermedad el día 100 | Actividad de ESAMBPCAA el día 100 (pmol/min/nmol) |
|---------|---|---|
| Grupo 1 | 27 (30)   | 45,7±6,7  |
| Grupo 2 | 25(30)  | 39,8±4,1  |
| Grupo 3 | 19(30)  | 11,4±3,5  |
| Grupo 4 | 25(30)  | 40±3,1  |
| Grupo 5 | 27(30)  | 35,3±5,1  |
| Grupo 6 | 15(30)  | 16,5±3,2  |
| Grupo 7 | 17(30)  | 14,1±2,9  |
| Grupo 8 | 25(30)  | 37,7±4,9  |

5 Por tanto, la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB y la puntuación de MDS son lo más eficientemente suprimidas por el oligopéptido GGDRGAPKRGSGKDSHH solo o en combinación con el oligopéptido GFGYGGGRASDYKSAHK y/o el oligopéptido QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR.

10 Los oligopéptidos GFGYGGGRASDYKSAHK y el oligopéptido QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR solo o en combinación tienen un efecto terapéutico moderado y no afectan a la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB. La combinación de GGDRGAPKRGSGKDSHH con GFGYGGGRASDYKSAHK y QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR tiene el efecto terapéutico más beneficioso. Destacadamente, el péptido GGDRGAPKRGSGKDSHH y sus combinaciones con el oligopéptido GFGYGGGRASDYKSAHK y/o el oligopéptido QGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR también tienen actividad preventiva (profiláctica) con la enfermedad.

Ejemplo 7

15 Supresión de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB y el tratamiento de EM por medios de exposición de la sangre del paciente a las proteínas de fusión de acuerdo con la invención:

Tres proteínas de fusión de las siguientes formulas fueron sintetizadas usando el sistema de traducción de ABNOVA sin células personalizado ([www.abnova.tw](http://www.abnova.tw)):

- 1) RGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGKRGAPKRGSGK
- 2) GAPKRGSGKYGGRASDYKSGTLKIFKLGGRDSRRGAPKRGSGKYGGRASDYKS GTLSKIFKLGGRDSR
- 20 3) GGDRGAPKRGSGKDSHHGFGYGGGRASDYKSAHKQGTLKIFKLGGRDSRSGSPMARR

Por tanto, estas proteínas de fusión contienen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 unidas en diferentes órdenes.

25 Todos los tres oligopéptidos fueron acoplados a perlas de Sefarosa activadas con CNBr (Pharmacia) a 0,1 mg de cada oligopéptido por 1 ml de perlas, bajo condiciones asépticas. Después del acoplamiento, el oligopéptido-Sefarosa fue lavado extensivamente con NaCl 1,14 M tamponado con Tris 0,01M, pH 8,0 que contenía EDTA 10 mM, para eliminar el material no asociado covalentemente y se empaquetó en columnas de 400 ml.

30 El caso de la aféresis de ESAMBPCAA fue realizado en St. Petersburg Medical Academy, Department of Neurology. Los inventores realizaron la aféresis de ESAMBPCAA en un paciente de 18 años con EM progresiva secundaria severa rápidamente progresiva, considerada que es resistente a la terapia convencional (corticoesteroides e inmunodepresores). El paciente sufrió 5 ciclos de aféresis, un ciclo a la semana. El plasma del paciente fue separado mediante un separador de plasma a flujo continuo, Cobe Spectra, EE.UU. El flujo de sangre varió de 50 a 70 ml/min. También fue añadida heparina con un bolo inicial de 5000 U, luego, en la primera fase, 50 U/min mediante la bomba. El plasma fue después lavado a través de la columna de Sefarosa, y el resto de la sangre fue devuelta al paciente. El flujo de plasma a través de la columna de Sefarosa fue controlado mediante un dispositivo de adsorción-desorción ADA— Medicap computerizado. Después del paso a través de la columna, el plasma fue

35

devuelto al paciente. En cada ciclo, 3000 ml de plasma fueron tratados. La puntuación EEED cayó de 6 antes de la primera aféresis a 5,5 dos semanas después del último ciclo. El MRI control realizado un mes después del último ciclo mostró la estabilización de las lesiones previas con la reducción de dos lesiones. No fueron detectadas nuevas lesiones. La velocidad de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB fue evaluada como se especifica en el Ejemplo 1 antes y dos semanas después del último ciclo de aféresis. Los datos se presentan en la Tabla 6 siguiente.

Tabla 6. Supresión de la hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB bajo el tratamiento realizado.

| Parámetro       | Antes de la terapia | 2 semanas después del último ciclo |
|-----------------|---------------------|------------------------------------|
| ESAMBPCAA       | 87 pmol/min/nmol    | 15 pmol/min/nmol                   |
| IgG             | 410 mg/dL           | 395 mg/dL                          |
| IgA             | 53 mg/dL            | 57 mg/dL                           |
| IgM             | 24 mg/dL            | 22 mg/dL                           |
| Puntuación EEED | 6                   | 5,5                                |

Por tanto, la exposición de la sangre del paciente con EM a proteínas de fusión de acuerdo con la invención suprime la actividad de ESAMBPCAA y proporciona un eficaz tratamiento para la EM.

También, otras diversas proteínas de fusión que contienen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 unidas en otros ordenes (vía péptido y péptidos no enlazantes) fueron producidas y analizadas con éxito para detectar la actividad supresora de ESAMBPCAA y la capacidad de mejorar los síntomas de la EM y disminuir el biomarcador de EM.

#### Ejemplo 8

Composición farmacéutica que contiene fragmentos de oligopéptido

Los tres oligopéptidos de las siguientes formulas: GGDRGAPKRGS GKD SHH, GFGYGGRASDYKSAHK y QGTLISKIFKLGGRDSRSGSPMARR han sido sintetizados por el laboratorio de síntesis orgánica en fase sólida (Shemyakin Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS); los fosfolípidos fueron comprados en Sigma - Aldrich y Avanti Polar Lipids. 50 g de la mezcla de fosfatidilcolina de huevo (PC), Dioleoil-fosfatidilcolina (DOPE) y 1, 2-dioleoil-3- trimetilamonio-propano (DOTAP) (a una relación molar de 4:2:1) fueron disueltos en cloroformo y luego el cloroformo fue eliminado por evaporación. Los oligopéptidos 1, 2 y 3 fueron disueltos en solución salina tamponada de fosfato (PBS), pH 7, 4 a una concentración de 5 g/L de cada oligopéptido individual (15 g/L total , proteína). La película lipídica en el recipiente de evaporación fue rehidratada mezclando con 10 litros de la solución de PBS-péptidos y agitando durante 30 min a 40°C. La emulsión de lípidos/proteínas resultante fue transferida a viales de 10 ml y fueron liofilizados. El polvo seco fue solubilizado "extemporal" con 5 ml de agua para la inyección (WFI) para formar grandes liposomas multi-laminares (LMV) que contenían los oligopéptidos.

#### Ejemplo 9

Tratamiento de pacientes con EM con recaídas y remisiones con la formulación liposómica oral de los oligopéptidos

El ensayo fue realizado entre Abril de 2003 y Junio de 2005 en St. Petersburg Medical Academy, Department of Neurology. Con la aprobación del Comité Ético local, una totalidad de 15 pacientes (5 hombres y 10 mujeres con una edad promedio de 32 años) con EM con recaídas y remisiones (diagnosticados de acuerdo con los criterios de Poster y MacDonald) con al menos dos recaídas documentadas. En los dos últimos años y con una puntuación EEED (Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EEED) de Kurtzke) de 0 hasta 5,5 fueron reclutados para el ensayo.

Los pacientes fueron tratados mediante administración oral diaria de liposomas (LMV), fueron preparados como se describe en el Ejemplo 8 a 0,5 mg de proteína por kg de peso corporal. El tratamiento fue realizado como monoterapia continuamente y diariamente durante un periodo de 2 años.

La puntuación EEED fue chequeada una vez cada dos meses. Fue realizado el chequeo del MRT de cerebro para el locus de desmielinización activo (ADL) una vez cada dos meses. El análisis de la frecuencia y la duración de las recaídas fueron realizados al final del periodo de observación de 2 años. El recuento de células sanguíneas, la actividad de ESAMBPCAA, la bioquímica de la sangre y los parámetros inmunológicos fueron chequeados al principio y al final del ensayo.

5 Todos los 15 pacientes tuvieron una puntuación EEED estable en los primeros 6 meses de tratamiento. La frecuencia promedio de las recaídas disminuyó de 2,7 por año en la inclusión a 1,5 por año al final del periodo de tratamiento. Durante el periodo de seguimiento de 2 años, los 11 pacientes se quedaron sin ninguna recaída. 6 pacientes (40%) tuvieron menos ADL al final del periodo de tratamiento. 7 pacientes (47%) tuvieron estabilización del proceso –el mismo número de ADL. En 2 pacientes (13%), el recuento del ADL incrementó. No fueron advertidos efectos adversos relacionados con la preparación de la investigación. Los parámetros inmunológicos, la bioquímica de la sangre y el recuento de células sanguíneas no se vieron significativamente alterados al final del periodo de tratamiento. Los datos se presentan en la Tabla 7.

10 Tabla 7. Parámetros inmunológicos, sanguíneos y bioquímica de la sangre al comienzo y al final del tratamiento (promedio de los datos para los 15 pacientes)

| Parámetro    | Al comienzo del tratamiento | Después del tratamiento |
|--------------|-----------------------------|-------------------------|
| CD3          | 48,75±9,68                  | 52,37±7,37              |
| CD4          | 29,75±6,43                  | 30,25±4,06              |
| CD8          | 22,87±5,34                  | 25,5±6,2                |
| CD4/CD8      | 1,37±0,29                   | 1,29±0,35               |
| IgA          | 2,88±1,53                   | 2,77±1,46               |
| IgM          | 1,59±0,71                   | 1,68±0,41               |
| IgG          | 19,67±6,45                  | 16,00±5,10              |
| HLADR        | 23,13±5,38                  | 21,25±5,88              |
| ESAMBPCAA    | 45,1±6,2                    | 12,5±4,5                |
| HB           | 128,86±14,73                | 126,57±20,08            |
| WBC          | 5,69±1,38                   | 5,04±0,98               |
| Linfocitos % | 28,29±8,94                  | 25,36±5,12              |
| ALT          | 0,29±0,20                   | 0,21±0,07               |
| AST          | 0,25±0,12                   | 0,19±0,06               |
| Bilirrubina  | 12,36±4,17                  | 10,39±2,67              |
| Urea         | 3,62±1,67                   | 4,11±1,16               |
| Creatinina   | 0,07±0,02                   | 0,08±0,01               |

15 Fue observada la menor velocidad de hidrólisis mediada por auto anticuerpo específica de PMB y que estaba en coincidencia con el efecto curativo significativo logrado. Por tanto, la toma oral de oligopéptidos de acuerdo con la presente invención tiene un efecto terapéutico favorable asociado a la disminución de la actividad de ESAMBPCAA. En la comparación con los datos retrospectivos disponibles, los resultados del tratamiento de acuerdo con la presente invención muestran mejores resultados que los del Beta-Interferón, que es el estándar que existe para la terapia de la EM. La tabla 8 de comparación se presenta a continuación.

| Tratamiento                               | Observaciones clínicas   | Datos de MRI:<br>Disminución de las lesiones activas | Reacciones adversas | Referencia  |
|---|--|--|---------------------|---|
| Copolímero 1                              | Disminución de la frecuencia de recaídas - 29%;<br>Ralentización de la progresión de la puntuación de EDSS         | Ninguna disminución significativa estadística        | Baja                | Johnson KP, Brooks BR, Cohén JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak PP et al. Copolymer-1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: Results of a phase III multicentre, double-blind, placebo controlled trial. The copolymer-1 multiple sclerosis study group. Neurology 1995; 45:1268. |
| Beta-Interferón                           | Disminución de la frecuencia de recaídas - 83%;<br>Ninguna ralentización de la progresión de la puntuación de EDSS | Disminución del 83%                                  | Alta                | Paty DW, Li DKB, the UBC MS/MRI Study Group and the Interferon Beta Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI results of a multi-centred, double-blind, placebo-controlled trial. Neurology 1993;43:662-7  |
| Oligopéptidos de acuerdo con la invención | Disminución de la frecuencia de recaídas -87%;<br>Ralentización de la progresión de la puntuación de EDSS          | Disminución de 75%                                   | Ninguna             | Ejemplo 8   |

La anterior descripción de la presente invención proporciona la ilustración y la descripción, pero no se pretende que sea exhaustiva o limitante de la invención a lo precisamente descrito. Son posibles modificaciones y variaciones consistentes con las enseñanzas anteriores o pueden adquirirse desde la práctica de la invención. Por lo tanto, se observa que el alcance de la invención está definido por las reivindicaciones y sus equivalentes.

**LISTA DE SECUENCIAS**

<110> ANGPORNT LIMITED

<120> COMPOSICIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

5 <130> 001-001

<160> 4

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

<211> 170

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|    | Ala | Ser | Gin | Lys | Arg | Pro | Ser | Gin | Arg | His | Gly | ser | Lys | Tyr | Leu | Ala |
|    | 1   |     |     | 5   | .   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| 15 | Thr | Ala | Ser | Thr | Met | Asp | His | Ala | Arg | His | Gly | Phe | Leu | Pro | Arg | His |
|    |     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |
|    | Arg | Asp | Thr | Gly | Ile | Leu | Asp | Ser | Ile | Gly | Arg | Phe | Phe | Gly | Gly | Asp |
|    |     |     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |
|    | Arg | Gly | Ala | Pro | Lys | Arg | Gly | Ser | Gly | Lys | Asp | Ser | His | His | Pro | Ala |
| 20 |     | 50  |     |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |
|    | Arg | Thr | Ala | His | Tyr | Gly | Ser | Leu | Pro | Gin | Lys | Ser | His | Gly | Arg | Thr |
|    |     |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |
|    | Gin | Asp | Glu | Asn | Pro | val | val | His | Phe | Phe | Lys | Asn | Ile | Val | Thr | Pro |
|    |     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     | t   | 95  |     |
| 25 | Arg | Thr | Pro | Pro | Pro | ser | Gin | Gly | Lys | Gly | Arg | Gly | Leu | Ser | Leu | Ser |
|    |     |     |     |     |     | 100 |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |
|    | Arg | Phe | ser | Trp | Gly | Ala | Glu | Gly | Gin | Arg | Pro | Gly | Phe | Gly | Tyr | Gly |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |
|    | Gly | Arg | Ala | Ser | Asp | Tyr | Lys | Ser | Ala | His | Lys | Gly | Phe | Lys | Gly | val |
| 30 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 140 |     |
|    | Asp | Ala | Gin | Gly | Thr | Leu | ser | Lys | Ile | Phe | Lys | Leu | Gly | Gly | Arg | Asp |
|    |     |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |
|    | ser | Arg | Ser | Gly | Ser | Pro | Met | Ala | Arg | Arg |     |     |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 170 |

35 <210> 2

<211> 17



ES 2 566 230 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

5 Gly Gly Asp Arg Gly Ala Pro Lys Arg Gly Ser Gly Lys Asp Ser His  
1 5 10 15  
His

<210> 3

10 <211> 16

<212> PRT

<21B> Homo sapiens

<400> 3

15 Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala ser Asp Tyr Lys ser Ala His Lys  
1 5 10 15

<210> 4

<211> 24

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> .4

Gln Gly Thr Leu ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg  
1 5 10 15  
Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg  
25 20

**REIVINDICACIONES**

1. Una combinación que comprende:
  - (a) un oligopéptido que tiene la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH (SEQ ID NO: 2) (SEQ ID NO: 2), o su variante, en donde dicha variante contiene al menos 6 restos de aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2 y que es capaz de unirse a autoanticuerpos hidrolizantes catalíticos de la Proteína Básica de anti Mielina (ESAMBPCAA); y
  - (b) al menos un oligopéptido seleccionado a partir del grupo que consiste en oligopéptidos que tienen las secuencias GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO: 3) y QGTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO 4).
2. La combinación de la reivindicación 1, que comprende (a) el oligopéptido que tiene la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH (SEQ ID NO: 2); y (b) al menos un oligopéptido seleccionado a partir del grupo que consiste en los oligopéptidos que tienen las secuencias GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO: 3) y QGTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO 4).
3. La combinación de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, que comprende el oligopéptido de SEQ ID NO: 2, o su variante, en donde las variantes contienen al menos 6 restos de aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2 y que es capaz de unirse a la Proteína Básica de anti Mielina (ESAMBPCAA); y teniendo ambos oligopéptidos las secuencias SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4.
4. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 como ingrediente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente o sistema de liberación de fármaco.
5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en donde dicha composición farmacéutica contiene el oligopéptido SEQ ID NO: 2 y los oligopéptidos de SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4.
6. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5, en donde dicho sistema de liberación de fármaco son liposomas.
7. Un péptido de fusión compuesto de (a) al menos un oligopéptido que tiene la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH (SEQ ID NO: 2) o su variante, en donde la variante contiene al menos 6 restos de aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2 y que es capaz de unirse a auto autoanticuerpos catalíticos de la anti Proteína Básica de Mielina (ESAMBPCAA); y (b) al menos un oligopéptido seleccionado a partir del grupo que consiste en oligopéptidos que tienen las secuencias GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO: 3) y QGTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO: 4), en donde dichos fragmentos se unen secuencialmente entre sí por medio de un enlazante no peptídico.
8. Un péptido de fusión compuesto de (a) al menos un oligopéptido que tiene la secuencia de aminoácidos GGDRGAPKRGSGKDSHH (SEQ ID NO: 2) y (b) al menos un oligopéptido seleccionado a partir del grupo que consiste en oligopéptidos que tienen las secuencias GFGYGGRASDYKSAHK (SEQ ID NO: 3) y QGTLSKIFKLGGRDSRSGSPMARR (SEQ ID NO: 4), en donde los oligopéptidos se unen secuencialmente entre sí por medio de un enlazante no peptídico en cualquier orden.
9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8 como ingrediente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente o sistema de liberación de fármaco.
10. El uso de una combinación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 ó 9, o un péptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8 en la fabricación de un medicamento para tratar la esclerosis múltiple.

Estructura primaria (secuencia de aminoácidos) de PBM humanos (SEQ ID NO:1)

1 ASQKRPSQRH GSKYLATAST MDHARHGFLP RHRDTGILDS IGRFFGGDRG  
APKRGSGKDS 60  
61 HHPARTAHYG SLPQKSHGRT QDENPVVHFF KNIVTPRTPP PSQGKGRGLS  
LSRFSWGAEG 120  
121 QRPFGYGGGR ASDYKSAHKG FKGVDAQGTL SKIFKLGGRD SRSGSPMARR 170

SEQ ID: 2:

GGDRGAPKRGSGKDSHH

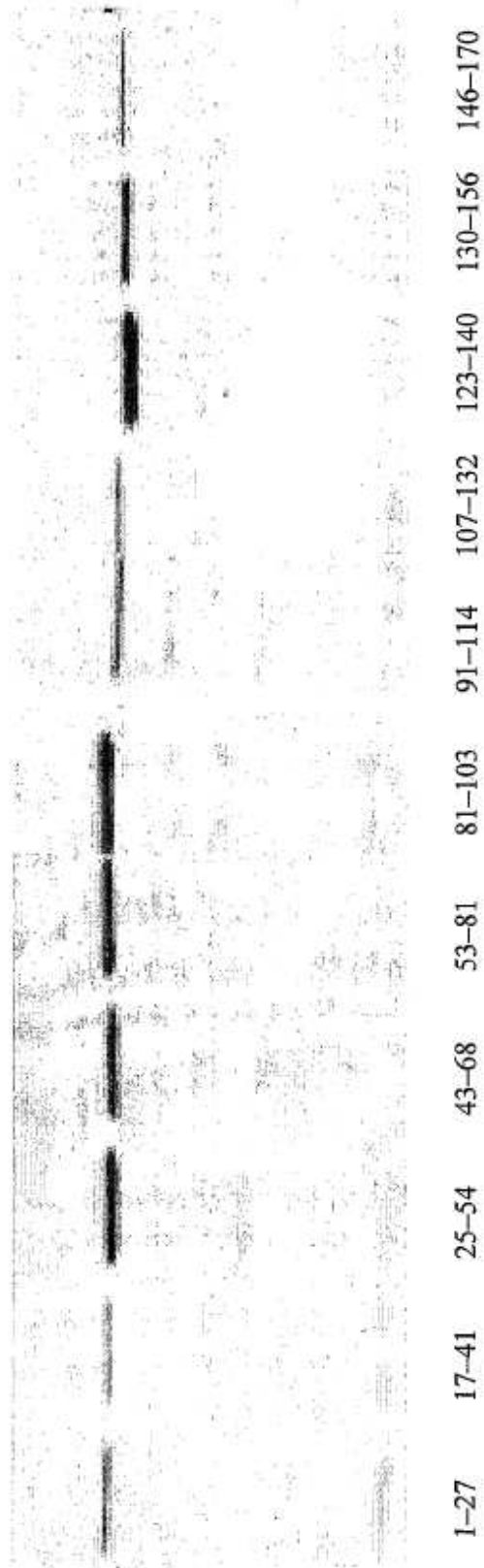
SEQ ID: 3:

GFGYGGGRASDYKSAHK

SEQ ID: 4:

QGTL SKIFKLGGRD SRSGSPMARR

**Fig. 1**



**Fig. 2**

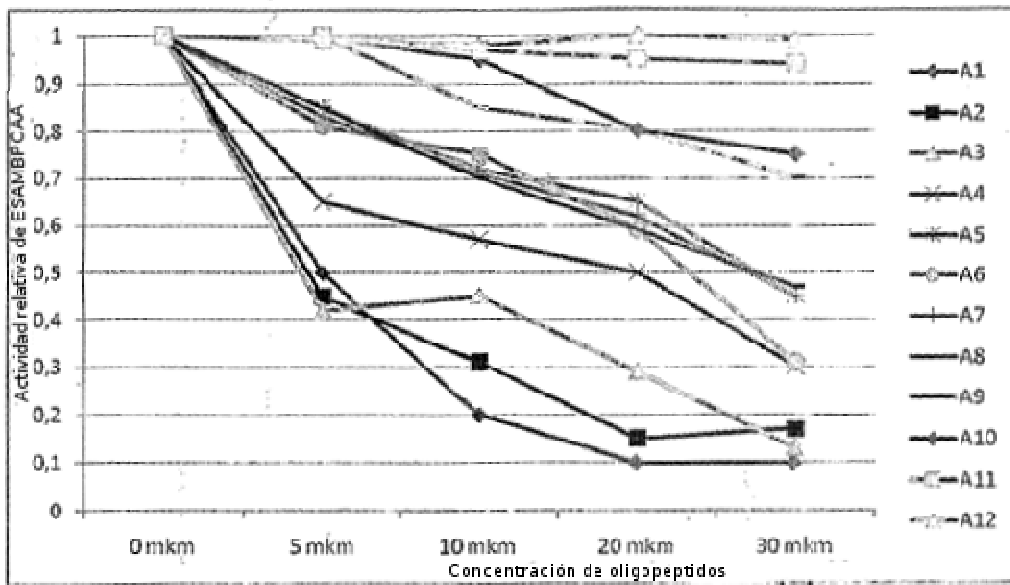


Fig. 3

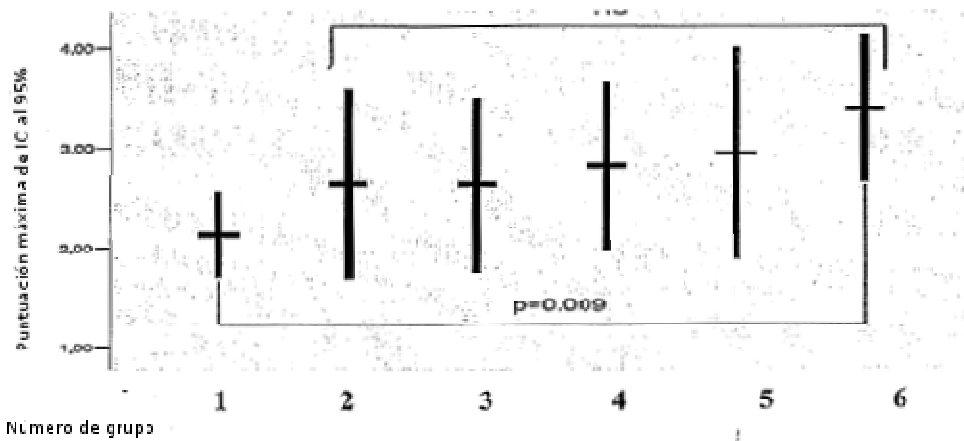


Fig. 4

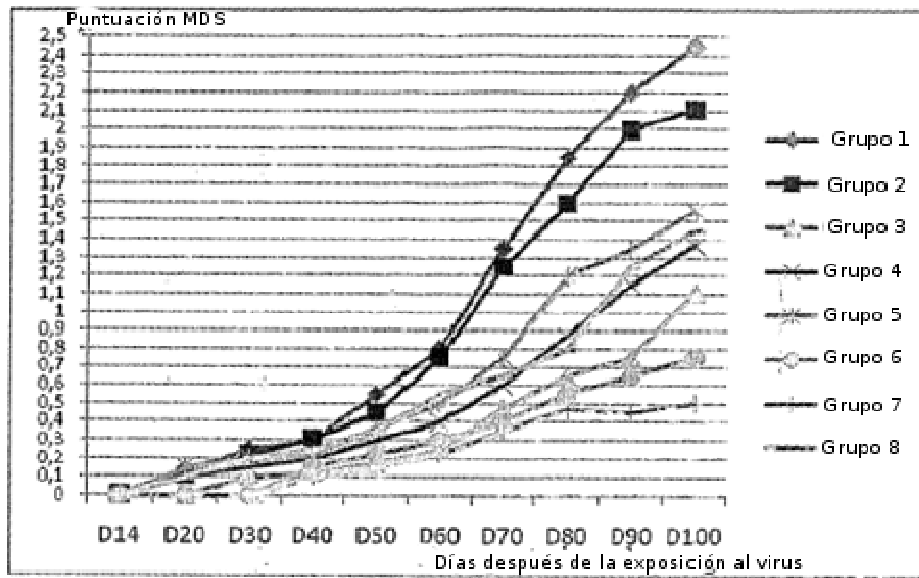


Fig. 5