

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 402**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/04** (2006.01)

**C07K 7/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.12.2011 PCT/IB2011/003256**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO2013088194**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2011 E 11817532 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2790715**

54 Título: **Péptidos modificados y su uso para tratar enfermedades autoinmunitarias**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.06.2017**

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE (50.0%)  
3, rue Michel-Ange  
75794 Paris Cedex 16, FR y  
IMMUPHARMA FRANCE SA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MULLER, SYLVIANE;  
BRIAND, JEAN-PAUL y  
ZIMMER, ROBERT**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**Observaciones:**

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

ES 2 618 402 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

Péptidos modificados y su uso para tratar enfermedades autoinmunitarias

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un péptido modificado y a su uso para tratar enfermedades autoinmunitarias.

5 **Antecedentes**

Las enfermedades autoinmunitarias se producen por una respuesta inmunitaria hiperactiva del sistema inmunitario contra sustancias y tejidos normalmente presentes en un organismo multicelular, es decir, el sistema inmunitario ataca a sus propios componentes. Esto puede restringirse a ciertos órganos o implicar a un tejido particular en diferentes lugares. El tratamiento de enfermedades autoinmunitarias típicamente se realiza con una medicación inmunosupresora que reduce la respuesta inmunitaria completa.

10 El lupus es una enfermedad autoinmunitaria que se estima que afecta a casi 1,4 millones de americanos, principalmente mujeres con edades comprendidas entre los 20 y los 40 años. En el lupus intervienen anticuerpos que atacan al tejido conectivo. La forma principal de lupus es una forma sistémica (lupus eritematoso sistémico, LES). El LES es una enfermedad autoinmunitaria crónica con fuertes componentes genéticos así como ambientales (véase, por ejemplo, Hochberg M C, Dubois' Lupus Erythematosus. 5ª ed., Wallace D J, Hahn B H, eds. Baltimore: Williams y Wilkins (1997); Wakeland E K, y col., Immunity 2001; 15(3): 397-408; Nath S K, y col., Curr. Opin. Immunol. 2004; 16(6): 794-800; D'Cruz y col., Lancet (2007), 369: 587-596). Se conocen diversas formas adicionales de lupus incluyendo, pero sin limitación, el lupus eritematoso cutáneo (LEC), nefropatía lúpica (NL), lupus neuropsiquiátrico (LESNP) y lupus neonatal.

20 El lupus sin tratamiento puede ser mortal, ya que el ataque progresa desde la piel y las articulaciones hasta los órganos internos, incluyendo los pulmones, el corazón y los riñones (siendo la enfermedad renal la preocupación principal), lo cual hace que el diagnóstico precoz y preciso y/o la evaluación del riesgo de desarrollar lupus sean particularmente críticos. El lupus aparece principalmente como una serie de brotes, con períodos intermedios con poca o ninguna manifestación de la enfermedad. La lesión renal, medida por la cantidad de proteína en la orina (proteinuria) es una de las áreas más precisas de lesiones asociadas con la patogenicidad en el LES, y es responsable de al menos un 50 % de la mortalidad y morbilidad de la enfermedad, sin ningún tratamiento.

30 Clínicamente, el LES es un trastorno heterogéneo caracterizado por autoanticuerpos de alta afinidad (auto-Ac). Los AutoAbs juegan un papel importante en la patogénesis del LES, y las diversas manifestaciones clínicas de la enfermedad se deben a la deposición de complejos inmunitarios que contienen anticuerpos en vasos sanguíneos que conduce a una inflamación en el riñón, el cerebro y la piel. Los auto-Ac también tienen efectos patogénicos directos que contribuyen a la anemia hemolítica y la trombocitopenia. El LES está asociado con la producción de anticuerpos antinucleares, complejos inmunitarios circulantes y defectos del sistema del complemento. El LES tiene una incidencia de aproximadamente 1 de cada 700 mujeres con edades comprendidas entre los 20 y los 60 años, en la población negra. El LES puede afectar a cualquier sistema de órganos y puede producir lesiones graves en los tejidos. En el LES están presentes numerosos autoAb de diferente especificidad. Los pacientes con LES con frecuencia producen auto-Ac que tienen especificidad anti-ADN, anti-Ro y antiplaquetas y que son capaces de iniciar rasgos clínicos de la enfermedad, tales como glomerulonefritis, artritis, serositis, bloqueo cardíaco completo en recién nacidos y anomalías hematológicas. Estos autoAb también están relacionados posiblemente con alteraciones del sistema nervioso central. Arbuckle y col. describieron el desarrollo de auto-Ac antes del inicio clínico de LES (Arbuckle y col. N. Engl. J. Med. 349 (16): 1526-1533 (2003)).

40 Los AutoAc que reconocen proteínas de unión al ARN (RBP; también denominados antígenos nucleares extraíbles) se caracterizaron por primera vez en LES hace más de 40 años (Holman, Ann NY Acad. Sci. 124 (2): 800-6 (1965)). Dichos RBP comprenden un grupo de proteínas-SSA (Ro52/TRIM21 y Ro60/TROVE2), SSB (La), ribonucleoproteína nuclear pequeña (RNP) U1 y proteína de Smith (Sm) con papeles en el procesamiento del ARN y en la bioquímica. Se han encontrado auto-Ac IgG anti-SSA y anti-SSB no solo en el LES, sino también en el síndrome de Sjögren y en la artritis reumatoide. Los auto-Ac anti-SSA están asociados con el lupus eritematoso cutáneo subagudo, y con un bloqueo cardíaco congénito y lupus neonatal en niños nacidos de mujeres positivas para anti-SSA. Los auto-Ac anti-SSB casi siempre se encuentran junto con auto-Ac anti-SSA, y ambos autoantígenos se asocian con hYRNA citoplásmico (Lerner y col., Science 211 (4480): 400-2 (1981)). Los auto-Ac anti-Sm son muy específicos para el LES y generalmente se encuentran junto con auto-Ac anti-RNP. Tanto las proteínas Sm como las RNP se asocian con especies de ARNsn en el espliceosoma del ARN nuclear (Lerner y col., Proc Natl Acad Sci USA 76(11): 5495-9 (1979)). También se encuentran auto-Ac anti-RNP en pacientes con enfermedad mixta del tejido conectivo. Se ha sugerido que la presencia de auto-Ac anti-RNP puede identificar casos de LES que muestran respuestas menos duraderas después de una terapia de disminución de linfocitos B (Cambridge y col., Ann Rheum Dis 67: 1011-16 (2008)).

55 La técnica anterior desvela medicinas para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias. Por ejemplo, las dos solicitudes internacionales WO 03/020747 y WO 03/025014 desvelan un fragmento de snRNP de 70 kDa, que está modificado por fosforilación y/o por acetilación, para tratar dichas patologías, es decir, las enfermedades

autoinmunitarias. Sin embargo, una experimentación adicional ha indicado que los péptidos desvelados en los documentos WO 03/020747 y WO 03/025014 son relativamente inestables y se eliminan rápidamente cuando se administran a los mamíferos. Además, algunos de los péptidos desvelados son inactivos.

Por lo tanto, existe la necesidad de proporcionar un mejor tratamiento para patologías autoinmunitarias.

## 5 Sumario

La presente descripción proporciona composiciones y su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria que se basa en el descubrimiento sorprendente e inesperado de que ciertas formas modificadas del péptido de SEQ ID NO: 2 son más estables cuando se administran a los mamíferos. De esta manera, en un aspecto, la presente descripción proporciona composiciones que comprenden estas formas y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 En otro aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica, o fármaco, útil para mejorar enfermedades autoinmunitarias, ventajosamente para el tratamiento de lupus.

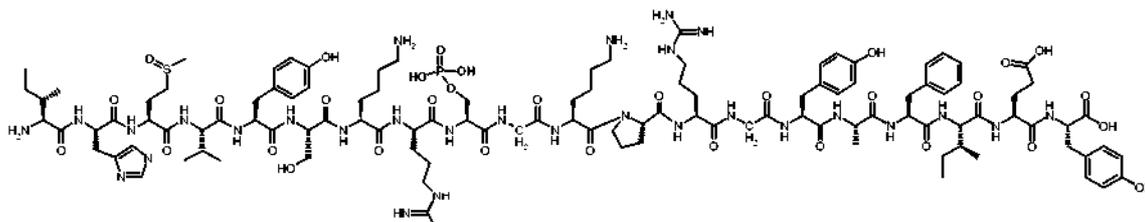
En un aspecto adicional, la presente descripción proporciona la composición farmacéutica para uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición terapéutica como se describe en el presente documento.

15 En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido aislado (recombinante o sintetizado), o una sal del mismo, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos:

IHMVYSKRSGKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 2],

en la que la serina (S) en la posición 9 está fosforilada, y la metionina (M) en la posición 3 está oxidada.

En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido del compuesto I que tiene la siguiente fórmula:



20

El compuesto I también puede representarse por:

IHM(O)VYSKRS(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)GKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 5]

En la que "M(O)" representa metionina oxidada, y "S(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)" representa fosfoserina.

25 Estos péptidos proceden de la proteína humana U1 snRNP 70 kDa (SEQ ID NO: 3) y corresponden a la región delimitada por el segmento de aminoácidos que se extiende desde el resto 132 al resto 151 de la SEQ ID NO: 3. Formalmente, el resto que está fosforilado corresponde al aminoácido en la posición 140 desde la primera metionina de la SEQ ID NO: 3 y el resto que está oxidado corresponde al aminoácido en la posición 134 desde la primera metionina de la SEQ ID NO: 3.

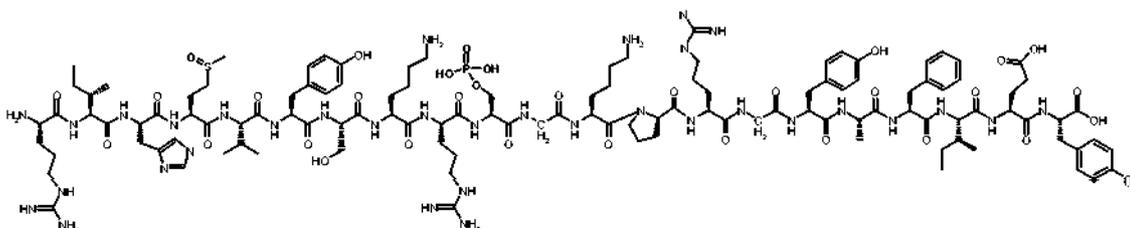
30 En ciertos aspectos, la descripción proporciona un péptido aislado que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o sal del mismo, que comprende una fosfoserina en la posición 10, y un resto de metionina oxidada en la posición 4. En una realización de este aspecto, la descripción proporciona una composición que comprende un péptido aislado que tiene o que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o sal del mismo, en la que el péptido comprende una fosfoserina en la posición 10 y un resto de metionina oxidado en la posición 4. En ciertas realizaciones adicionales, el péptido de SEQ ID NO: 1 también comprende un resto de lisina acetilado. En particular, dicho péptido de SEQ ID NO: 1 comprende una fosfoserina en la posición 10 y un resto de metionina oxidado en la posición 4, y una acetilación de una o las dos lisinas en posición 8 y 12 y, más particularmente, comprende además una fosfoserina en la posición 7.

40 En una realización de este aspecto, la descripción proporciona una composición que comprende un péptido aislado que tiene o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o sal del mismo, en la que el péptido comprende una fosfoserina en la posición 9 y un resto de metionina oxidado en la posición 3. En ciertas realizaciones adicionales, el péptido de SEQ ID NO: 2 también comprende un resto de lisina acetilado.

En ciertos aspectos, la descripción proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de uno o más de los péptidos descritos en el presente documento. En ciertas realizaciones, la composición comprende además un

vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la descripción proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un péptido, o sal del mismo, seleccionado del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2, que comprende una fosfoserina en la posición 9, y metionina oxidada en la posición 3; la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1, que comprende una fosfoserina en la posición 10 y una metionina oxidada en la posición 4; y una combinación de ambas.

En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido del compuesto II que tienen la siguiente fórmula:



El compuesto II también puede representarse por:

RIHM(O)VYSKRS(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)GKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 4]

en la que M(O) representa la oxidación de la metionina y S(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>) representa la fosforilación de serina.

De esta manera, la descripción proporciona péptidos, o una sal del mismo, que comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4 y la SEQ ID NO: 5.

La invención se ilustrará mejor mediante las siguientes figuras 1 a 6, la descripción que se acompaña, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas.

### **Breve descripción de los dibujos**

Una realización de la invención no debe considerarse limitante de la invención.

La **Figura 1** representa la estabilidad a 37 °C del péptido de acuerdo con la invención (Compuesto II) en comparación con la estabilidad del péptido que consiste en la SEQ ID NO: 1, en la que la serina en posición 10 está fosforilada. El gráfico representa el porcentaje de estabilidad a lo largo del tiempo (expresado en días). Las curvas A-C representan la estabilidad del Compuesto II a una concentración de 200, 100 y 50 µg/ml, respectivamente. Las curvas D-F representan la estabilidad del péptido que consiste en la SEQ ID NO: 1, en el que la serina en la posición 10 está fosforilada a una concentración de 200, 100 y 50 µg/ml, respectivamente.

La **Figura 2** es un gráfico de Kaplan-Meier que representa la tasa de supervivencia acumulativa (en porcentaje) a lo largo del tiempo (expresado en semanas) de ratones en los que se ha inyectado NaCl (línea con círculos), consistiendo el péptido en la SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada (línea con cuadrados) y el compuesto II de acuerdo con la invención (líneas con triángulos).

La **Figura 3** representa la puntuación de proteinuria a lo largo del tiempo (expresado en semanas) de ratones en los que se ha inyectado NaCl (línea con círculos), consistiendo el péptido en la SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada (línea con cuadrados) y el compuesto II de acuerdo con la invención (líneas con triángulos).

La **Figura 4** representa la medida de la hiperplasia de células de ratones MRL/lpr. El eje Y representa el número de células/ml de sangre ( $\times 10^6$ ), en ratones tratados con NaCl (círculos), consistiendo el péptido en la SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada (cuadrados) y el compuesto II de acuerdo con la invención (triángulos).

La **Figura 5** representa la medida de la afinidad por la proteína HSC70 del péptido que consiste en la SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada. Las curvas corresponden a la respuesta del Biacore a lo largo del tiempo (expresado en segundos) usando el péptido que consiste en la SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada a una concentración de 25 µM (A), 12,5 µM (B), 6,25 µM (C), 3,12 µM (D) y 1,56 µM (E).

La **Figura 6** representa la medida de la afinidad del compuesto II de acuerdo con la invención para la proteína HSC70. Las curvas corresponden a la respuesta del Biacore a lo largo del tiempo (expresado en segundos) usando el compuesto II a una concentración de 25 µM (A), 12,5 µM (B), 6,25 µM (C), 3,12 µM (D) y 1,56 µM (E).

### **Descripción detallada**

A continuación, se proporciona una descripción detallada de la invención para ayudar a los expertos en la materia a poner en práctica la presente invención. Los expertos habituales en la materia pueden realizar modificaciones y

variaciones en las realizaciones descritas en el presente documento sin apartarse del espíritu o alcance de la presente invención. Aunque también puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la puesta en práctica o ensayo de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos. A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. La terminología usada en la descripción de la invención del presente documento sirve únicamente para describir realizaciones particulares y no pretende ser limitante de la invención.

Como se usan en el presente documento, los siguientes términos pueden tener los significados que se les atribuye más adelante, a menos que se especifique otra cosa. Sin embargo, debe entenderse que también son posibles otros significados conocidos o entendidos por los expertos habituales en la materia, y están dentro del alcance de la presente invención.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que dentro de la invención se incluyen todos los valores intermedios, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente otra cosa, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo señalado. También se incluyen dentro de la invención los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños que pueden incluirse de forma independiente en los intervalos más pequeños, sujeto a cualquier límite excluido específicamente en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o los dos límites, también se incluyen en la invención los intervalos que excluyen ambos de esos límites incluidos.

Debe indicarse que, como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una”, “y”, y “el”, “la” incluyen las referencias plurales (es decir, se refieren a uno, más de uno o al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, “un elemento” significa un elemento o más de un elemento.

El término “aproximadamente”, como se usa en el presente documento, cuando está asociado con valores o intervalos numéricos, refleja el hecho de que hay un cierto nivel de variación que se reconoce y tolera en la técnica debido a limitaciones prácticas y/o teóricas. Por ejemplo, se tolera una pequeña variación debida a las varianzas intrínsecas en la manera en la que funcionan ciertos dispositivos y/o en la manera en la que se toman las medidas. De acuerdo con lo anterior, la frase “aproximadamente” normalmente se usa para incluir valores dentro de la desviación típica o error típico.

Como se usan en el presente documento, los “derivados” son composiciones formadas a partir de los compuestos nativos directamente, por modificación o por sustitución parcial. Como se usan en el presente documento, los “análogos” son composiciones que tienen una estructura similar, pero no idéntica, al compuesto nativo.

Las expresiones “cantidad/dosis eficaz”, “cantidad/dosis farmacéuticamente eficaz”, “cantidad/dosis farmacéuticamente eficaz” o “cantidad/dosis terapéuticamente eficaz” puede hacer referencia, pero sin limitarse de ninguna manera, a que esa cantidad/dosis del ingrediente farmacéutico activo es suficiente para prevenir, inhibir la aparición, mejorar, retrasar o tratar (aliviar un síntoma en alguna medida, preferentemente todos) los síntomas de una afección, trastorno o patología. La cantidad eficaz depende del tipo de enfermedad, la composición usada, la vía de administración, el tipo de mamífero que se esté tratando, las características físicas del mamífero específico en consideración, la medicación concurrente y otros factores que reconocerán los expertos en las técnicas médicas. En general, se administra una cantidad comprendida entre 0,1 mg/kg y 1000 mg/kg de peso corporal/día de ingredientes activos dependiendo de la potencia del agente. La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos compuestos puede determinarse por procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL50 (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DE50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación DL50/DE50. Se prefieren compuestos que presentan grandes índices terapéuticos. Aunque pueden usarse compuestos que presentan efectos secundarios tóxicos, debe tenerse cuidado de diseñar un sistema de liberación que dirija dichos compuestos al sitio del tejido afectado para minimizar las posibles lesiones en las células no infectadas y, de esta manera, reducir los efectos secundarios. Los datos obtenidos a partir de los ensayos del cultivo de células y los estudios animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de dichos compuestos preferentemente está dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE50 con una toxicidad pequeña o nula. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier compuesto usado en el método de la invención, la dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Una dosis puede formularse en modelos animales para conseguir un intervalo de concentraciones en plasma circulante que incluye la CI50 (es decir, la concentración del compuesto de ensayo que consigue una inhibición semimáxima de los síntomas) como se determina en un cultivo celular. Dicha información puede usarse para determinar de forma más precisa las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, por cromatografía líquida de alta resolución.

La expresión “composición farmacéutica”, “composición terapéutica”, “formulación terapéutica” o “formulación farmacéuticamente aceptable” puede significar, pero de ninguna manera se limita a, una composición o formulación

que permite la distribución eficaz de un agente proporcionado por la invención, que está en una forma adecuada para la administración en la localización física más adecuada para su actividad deseada, por ejemplo, la administración sistémica.

5 La expresión “farmacéuticamente aceptable” o “farmacológicamente aceptable” puede significar, pero de ninguna manera está limitada a, entidades y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción indeseada cuando se administra a un animal o a un ser humano, según sea apropiado.

10 La expresión “vehículo farmacéuticamente aceptable” o “vehículo farmacológicamente aceptable” puede significar, pero sin limitación, todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Se describen vehículos adecuados en la edición más reciente de Remington's Pharmaceutical Sciences, un texto de referencia convencional en ese campo. Los ejemplos preferidos de dichos vehículos o diluyentes incluyen, pero sin limitación, agua, solución salina, soluciones de glicerol, solución de dextrosa y albúmina de suero humano al 5 %. También pueden usarse liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites fijos. El uso de dichos medios o agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. 15 Excepto cuando cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones. También pueden incorporarse en las composiciones compuestos activos complementarios.

20 La expresión “administración sistémica” se refiere a una vía de administración que es, por ejemplo, entérica o parenteral, y tiene como resultado la distribución sistémica de un agente que conduce a la absorción sistémica o acumulación de fármacos en el torrente sanguíneo, seguido de su distribución a lo largo de todo el cuerpo. Las formas adecuadas, en parte, dependen del uso o la vía de entrada, por ejemplo, la vía oral, transdérmica o por inyección. Dichas formas no deben impedir que la composición o formulación alcance una célula diana (es decir, una célula en la que se desea liberar el polímero cargado negativamente). Por ejemplo, las composiciones farmacológicas inyectadas en el torrente sanguíneo deben ser solubles. En la técnica se conocen otros factores e 25 incluyen consideraciones tales como toxicidad y formas que impiden que la composición o formulación ejerza su efecto. Las vías de administración que conducen a la absorción sistémica incluyen, sin limitaciones: intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, inhalación, oral, intrapulmonar e intramuscular. Se ha demostrado que la velocidad de entrada de un fármaco en la circulación es una función del peso molecular o tamaño. El uso de un liposoma u otro vehículo de fármaco que comprenda los compuestos de la presente invención puede localizar potencialmente el fármaco, por ejemplo, en ciertos tipos de tejidos, tales como los tejidos del sistema reticuloendotelial (RES). También es útil una formulación de liposomas que puede facilitar la asociación de un fármaco con la superficie de células tales como linfocitos y macrófagos. 30

La expresión “administración local” se refiere a una vía de administración en la que el agente se libera en un sitio que es apropiado o está próximo, por ejemplo, está a una distancia menor o igual a aproximadamente 10 cm del sitio 35 de la lesión o enfermedad.

El término “derivados” puede significar, pero de ninguna manera se limita a, composiciones químicas, por ejemplo, ácidos nucleicos, nucleótidos, polipéptidos o aminoácidos, formados a partir de los compuestos nativos directamente, por modificación o por sustitución parcial. El término “análogos” puede hacer referencia, pero de ninguna forma se limita a, composiciones químicas, por ejemplo, ácidos nucleicos, nucleótidos, polipéptidos o 40 aminoácidos que tienen una estructura similar a, pero no idéntica al compuesto nativo.

La expresión “mutaciones conservativas” se refiere a la sustitución, delección o adición de ácidos nucleicos que alteran, añaden o eliminan un solo aminoácido o un pequeño número de aminoácidos en una secuencia codificante en la que las alteraciones del ácido nucleico dan como resultado la sustitución de un aminoácido químicamente similar. Los aminoácidos que pueden servir como sustituciones conservativas entre sí incluyen los siguientes: 45 Básicos: Arginina (R), Lisina (K), Histidina (H); Ácidos: Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E), Asparagina (N), Glutamina (Q); Hidrófilos: Glicina (G), Alanina (A), Valina (V), Leucina (L), Isoleucina (I); Hidrófobos: Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W); Que contienen azufre: Metionina (M), Cisteína (C). Además, generalmente son homólogas las secuencias que difieren por variaciones conservativas.

50 Por “homología” se entiende la secuencia de nucleótidos de dos o más moléculas de ácido nucleico o dos o más secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos que son parcial o completamente idénticas. En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico homóloga tiene un 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 % de similitud o identidad de secuencia con un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 1, respectivamente.

55 Los “homólogos” pueden ser naturales o pueden crearse por síntesis artificial de uno o más ácidos nucleicos que tienen secuencias relacionadas, o por modificación de uno o más ácidos nucleicos para producir ácidos nucleicos relacionados. Los ácidos nucleicos son homólogos cuando proceden, de forma natural o artificial, de una secuencia antecesora común (por ejemplo, ortólogos o parálogos). Si no se describe expresamente la homología entre dos ácidos nucleicos, la homología puede deducirse por una comparación de ácidos nucleicos entre dos o más secuencias. Si las secuencias demuestran algún grado de similitud de secuencia, por ejemplo, mayor de

aproximadamente un 30 % a nivel de la estructura de aminoácidos primaria, se concluye que comparten un antecesor común. Para los fines de la presente invención, los genes son homólogos si las secuencias de ácido nucleico son suficientemente similares para permitir la recombinación y/o hibridación en condiciones de baja rigurosidad. Además, los polipéptidos se consideran homólogos si sus secuencias de ácido nucleico son suficientemente similares como para permitir la recombinación o hibridación en condiciones de baja rigurosidad, y opcionalmente demuestran actividad de reparación de la membrana, y opcionalmente pueden reconocerse por (es decir presentar una reacción cruzada con) un anticuerpo específico para un epítipo contenido dentro de la secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NO: 1-6.

El término "célula" puede hacer referencia a, pero de ninguna manera se limita a, su sentido biológico habitual, y no se refiere a un organismo multicelular entero. La célula, por ejemplo, puede estar *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*, por ejemplo, en cultivo celular, o puede estar presente en un organismo multicelular incluyendo, por ejemplo, aves, plantas y mamíferos tales como seres humanos, vacas, ovejas, simios, monos, cerdos, perros y gatos. La célula puede ser procariótica (por ejemplo, una célula bacteriana) o eucariota (por ejemplo, una célula de mamífero o vegetal).

La expresión "célula hospedadora" puede significar, pero de ninguna manera se limita a, una célula que podría usarse para llevar un ácido nucleico heterólogo, o expresa un péptido o proteína codificada por un ácido nucleico heterólogo. Una célula hospedadora puede contener genes que no se encuentran dentro de la forma nativa (no recombinante) de la célula, genes que se encuentran en la forma nativa de la célula donde los genes se han modificado y se han reintroducido en la célula por medios artificiales, o un ácido nucleico endógeno para la célula que se ha modificado de forma artificial sin retirar el ácido nucleico de la célula. Una célula hospedadora puede ser eucariótica o procariótica. Las condiciones de crecimiento generales necesarias para el cultivo de bacterias pueden encontrarse en textos como *BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY*, vol. 1, N. R. Krieg, ed., Williams y Wilkins, Baltimore/London (1984). Una "célula hospedadora" también puede ser una en la que los genes endógenos o promotores, o ambos, se han modificado para producir uno o más de los componentes polipeptídicos del complejo de la invención.

Como se usa en el presente documento, "P140" se refiere a un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada.

La expresión "cantidad o dosis terapéuticamente eficaz" incluye una dosis de un fármaco que es capaz de conseguir un efecto terapéutico en un sujeto que lo necesita. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un fármaco puede ser la cantidad que es capaz de prevenir o aliviar uno o más síntomas asociados con una enfermedad o trastorno, por ejemplo, una lesión de un tejido o una enfermedad o trastorno relacionado con el músculo. La cantidad exacta puede averiguarse por un experto en la materia usando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vol. 1-3, 1992), Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999) y Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20<sup>a</sup> Edición, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams y Wilkins).

Un kit es cualquier artículo fabricado (por ejemplo, un envase o recipiente) que comprende al menos un reactivo, por ejemplo, una sonda, para detectar específicamente un marcador de la invención. El artículo fabricado puede promoverse, distribuirse o venderse como una unidad para poner en práctica los métodos de la presente invención. Los reactivos incluidos en dicho kit comprenden sondas/cebadores y/o anticuerpos para su uso en la detección de la expresión de genes de sensibilidad y resistencia. Además, los kits de la presente invención preferentemente pueden contener instrucciones que describen un ensayo de detección adecuado. Dichos kits pueden usarse convenientemente, por ejemplo, en situaciones clínicas, para el diagnóstico de pacientes que presentan síntomas de cáncer, en particular pacientes que presentan la posible presencia de un tumor.

A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención.

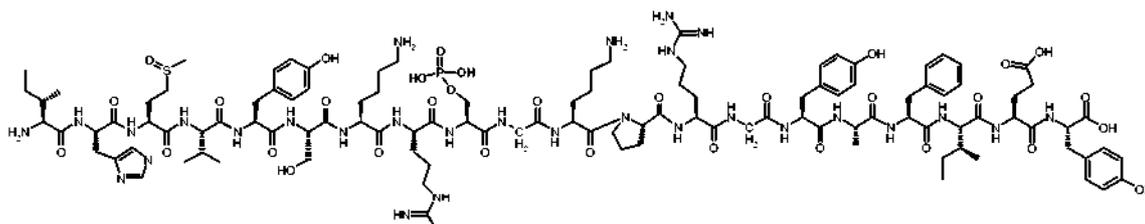
Las siguientes referencias proporcionan a un experto una definición general de muchos de los términos usados en la presente invención: Singleton y col., *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology* (2<sup>a</sup> ed. 1994); *The Cambridge Dictionary of Science and Technology* (Walker ed., 1988); *The Glossary of Genetics*, 5<sup>a</sup> Ed., R. Rieger y col. (eds.), Springer Verlag (1991); y Hale y Marham, *the Harper Collins Dictionary of Biology* (1991).

En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido aislado (recombinante o sintetizado), o una sal del mismo, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos:

IHMVYSKRSGKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 2],

en la que la serina (S) en posición 9 está fosforilada, y la metionina (M) en posición 3 está oxidada.

En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido del compuesto I que tiene la siguiente fórmula:



El compuesto I también puede representarse por:

IHM(O)VYSKRS(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)GKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 5]

en la que "M(O)" representa metionina oxidada y "S(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)" representa fosfoserina.

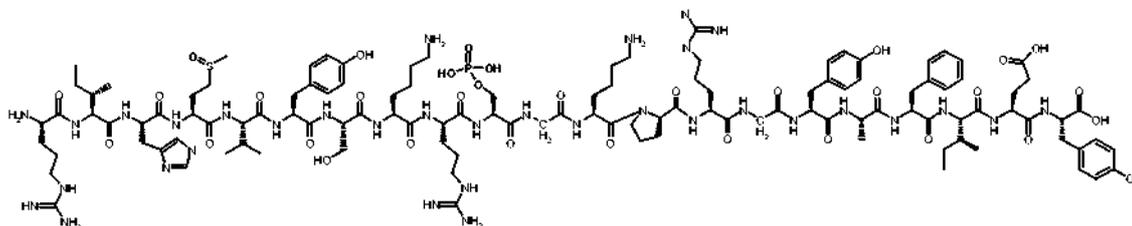
5 Estos péptidos proceden de la proteína humana U1 snRNP 70 kDa (SEQ ID NO: 3) y corresponden a la región delimitada por el segmento de aminoácidos que se extiende desde el resto 132 al resto 151 de la SEQ ID NO: 3. Formalmente, el resto que está fosforilado corresponde al aminoácido en la posición 140 desde la primera metionina de la SEQ ID NO: 3 y el resto que está oxidado corresponde al aminoácido en la posición 134 desde la primera metionina de la SEQ ID NO: 3.

10 En ciertos aspectos, la descripción proporciona un péptido aislado que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o una sal del mismo, que comprende una fosfoserina en la posición 10 y un resto de metionina oxidado en la posición 4. En una realización de este aspecto, la descripción proporciona una composición que comprende un péptido aislado que tiene o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o una sal del mismo, donde el péptido comprende una fosfoserina en la posición 10 y un resto de metionina oxidado en la posición 4. En ciertas realizaciones adicionales, el péptido de SEQ ID NO: 1 también comprende un resto de lisina acetilado.

15 En aspectos adicionales, la descripción proporciona un péptido aislado que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o sal del mismo, que comprende una fosfoserina en la posición 9 y un resto de metionina oxidado en la posición 3. En una realización de este aspecto, la descripción proporciona una composición que comprende un péptido aislado que tiene o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o sal del mismo, donde el péptido comprende una fosfoserina en la posición 9 y un resto de metionina oxidado en la posición 3. En ciertas realizaciones adicionales, el péptido de SEQ ID NO: 2 también comprende un resto de lisina acetilado.

20 En ciertos aspectos, la descripción proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de uno o más de los péptidos descritos en el presente documento. En ciertas realizaciones, la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la descripción proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un péptido, o sal del mismo, seleccionado del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2, que comprende una fosfoserina en la posición 9 y metionina oxidada en la posición 3; la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1, que comprende una fosfoserina en la posición 10 y una metionina oxidada en la posición 4; y una combinación de ambas.

25 En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido de compuesto II que tiene la siguiente fórmula:



El compuesto II también puede representarse por:

35 RIHM(O)VYSKRS(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)GKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 4]

en la que M(O) representa la oxidación y S(PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>) representa la fosforilación.

La descripción proporciona péptidos y/o sales de los mismos que comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, y combinaciones de los mismos, así como composiciones que los comprenden.

En ciertas realizaciones, la descripción proporciona un péptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, que comprende una fosfoserina en la posición 10 y una metionina oxidada en la posición 4 (por ejemplo, SEQ ID NO: 4) (también denominado en el presente documento Compuesto II o P140 (MO)).

5 De acuerdo con la presente descripción, los péptidos aislados que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 5, respectivamente, están modificados por al menos dos modificaciones postraduccionales (modificaciones que se producen después de la síntesis de los péptidos). En ciertas realizaciones, la modificación postraduccional se selecciona del grupo que consiste en fosforilación (adición de un fosfato  $\text{PO}_3\text{H}_2$ ), por ejemplo, fosforilación de un resto de serina; oxidación, por ejemplo, oxidación de un resto de metionina; acetilación, por ejemplo, acetilación de un resto de lisina; y combinaciones de los mismos.

10 En una realización preferida, la descripción proporciona un péptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 2, que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3, o una sal de la misma. En ciertas realizaciones, la descripción proporciona el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 2, que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3, o una sal de la misma, y un vehículo, por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones adicionales, la descripción proporciona una composición, por ejemplo, una composición terapéutica, que comprende una cantidad eficaz de un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 2, que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3, o una sal de la misma, y un vehículo, por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

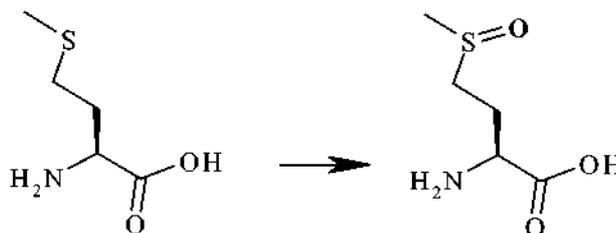
20 En otra realización, la descripción proporciona un péptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 4 que comprende una fosfoserina en la posición 10 y una metionina oxidada en la posición 4, o una sal de la misma. En ciertas realizaciones, la descripción proporciona el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 4, que comprende una fosfoserina en la posición 10 y una metionina oxidada en la posición 4, o una sal de la misma, y un vehículo, por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones adicionales, la descripción proporciona una composición, por ejemplo, una composición terapéutica, que comprende una cantidad eficaz de un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 4 que comprende una fosfoserina en la posición 10, o una sal de la misma, y una metionina oxidada en la posición 4, y un vehículo, por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 En otra realización, la descripción proporciona un péptido aislado que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 5 que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3, o una sal de la misma. En ciertas realizaciones, la descripción proporciona el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 5 que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3, o sal de la misma, y un vehículo, por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones adicionales, la descripción proporciona una composición, por ejemplo, una composición terapéutica, que comprende una cantidad eficaz de un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 5, que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3, o una sal de la misma, y un vehículo, por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 De forma sorprendente e inesperada, se descubrió que los péptidos descritos en el presente documento son más estables *in vitro* en comparación con sus homólogos no oxidados. La estabilidad se mide como se desvela en la sección de ejemplos. El péptido fosforilado-oxidado se degrada menos espontáneamente en solución que su homólogo no oxidado, aumentando dicha estabilidad sus propiedades biológicas.

Además, los inventores han identificado sorprendentemente que la oxidación de metionina aumenta la estabilidad del péptido sin afectar al efecto biológico de dicho péptido, lo cual es contrario a las enseñanzas de la técnica anterior. De hecho, se ha notificado abundantemente en la técnica que las proteínas o péptidos que contienen metionina oxidada tienen rupturas en su estructura tridimensional y/o bioactividad. Los péptidos modificados descritos en el presente documento tienen una afinidad por la proteína HSC70 esencialmente idéntica al homólogo no oxidado como se desvela en la sección de ejemplos.

En ciertas realizaciones, la oxidación se produce en la Metionina (M) en la posición 9 de la SEQ ID NO: 2, o en la posición 10 de la SEQ ID NO: 1, que son posiciones equivalentes a la posición 134 de la SEQ ID NO: 3. El átomo de azufre se oxida como se ilustra a continuación.



50 metionina

metionina oxidada (sulfóxido de metionina)

Los péptidos anteriores (SEQ ID NO: 1, 2, 4 y 5) pueden sintetizarse por técnicas usadas comúnmente en este campo, tales como síntesis biológica o síntesis química. La síntesis biológica se refiere a la producción, *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*, del péptido de interés, mediante la transcripción y traducción de una molécula de ácido nucleico que codifica dichos péptidos.

5 Por ejemplo, la secuencia de ácido nucleico:

MGNATHCAYATGGTNTAYWSNAARMGNWSNGGNAARCCNMGG NTAYGCNTTYATHGARTAYTRR [SEQ ID NO: 6]

se transcribe y se traduce en un sistema *in vitro* o en un organismo hospedador, para producir el péptido de la SEQ ID NO: 1. El péptido producido de esta manera se purifica de acuerdo con técnicas bien conocidas.

10 La síntesis química consiste en polimerizar el péptido deseado mediante la adición de los aminoácidos necesarios. En la sección de ejemplos se desvela un método.

Es posible sintetizar químicamente los péptidos de la SEQ ID NO: 1 y 2 por la química clásica de fase sólida Fmoc (N-[9-fluorenil]metoxycarbonilo) y purificarlos por cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (HPLC; Neimark y Briand, 1993. Monneaux y col., 2003, Eur. J. Immunol., 33, 287-296, Page y col., 2009, PloS ONE 4, e5273).

15 También es posible sintetizar directamente los péptidos de SEQ ID NO: 1 y 2, en los cuales los restos respectivos en las posiciones 9 y 10 están fosforilados. Para este fin, durante la síntesis del péptido se usó un derivado de serina de tipo Fmoc-Ser(PO(Obz)OH)-OH, en la posición deseada.

20 También puede añadirse un grupo fosfato (-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>) después de la síntesis del péptido, de acuerdo con protocolos bien conocidos en la técnica.

La serina puede fosforilarse por incubación de los péptidos de SEQ ID NO: 1 o 2 con serinas quinasa específicas seleccionadas entre Proteína Quinasa A o C (PKA o PKC) o caseína quinasa II, en presencia de adenosina trifosfato (ATP). De esta manera los péptidos se fosforilan en una serina (en posición 6 o 9 de la SEQ ID NO: 2, o en posición 7 o 10 de la SEQ ID NO: 1) o en las dos serinas. El péptido fosforilado deseado se separa de los otros, por ejemplo, por cromatografía.

25 También puede añadirse químicamente -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> en la posición específica (en la posición 9 de la SEQ ID NO: 2, o en la posición 10 de la SEQ ID NO: 1) usando un grupo protector específico, que el experto puede elegir fácilmente de acuerdo con su conocimiento común.

Puede usarse cualquier otra técnica conocida en este campo, que permita la fosforilación específica de serina.

30 En ciertas realizaciones, la oxidación de metionina se realiza de acuerdo con el siguiente proceso:

tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 mM a 37 °C durante 4 horas o en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO, Me<sub>2</sub>SO), 0,1 M más HCl 0,5 M, a 22 °C durante un periodo de 30 a 180 min.

Puede usarse cualquier otra técnica conocida en este campo, que permita la oxidación específica de metionina.

35 En cualquiera de los aspectos o realizaciones descritos en el presente documento, el péptido o péptidos proporcionados por la descripción pueden estar presentes en forma de una sal conocida por un experto en la materia, tal como, por ejemplo, sales de sodio, sales de amonio, sales de calcio, sales de magnesio, sales de potasio, sales acetato, sales carbonato, sales citrato, sales cloruro, sales sulfato, sales aminoclorhidrato, sales borhidrato, sales bencenosulfonato, sales fosfato, sales dihidrogenofosfato, sales succinato, sales citrato, sales tartrato, sales lactato, sales mandelato, sales metanosulfonato (mesilato) o sales p-toluenosulfonato (tosilato). Esta lista se proporciona a modo de ejemplo y no pretende ser limitante de la presente invención. Por ejemplo, el experto en la materia puede determinar fácilmente, de acuerdo con su conocimiento, la sal apropiada.

En una realización adicional, la descripción proporciona un péptido que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos:

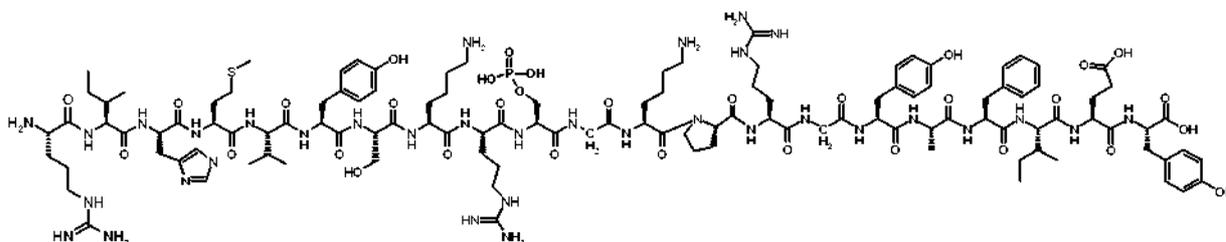
45 RIHMVYSKRSKGKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 1], que comprende una fosfoserina en la posición 10, y una metionina oxidada en la posición 4, o sal de la misma. En una realización ventajosa, la invención se refiere al péptido definido anteriormente, que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4 o una sal de la misma.

50 En otro aspecto, la descripción proporciona una composición terapéutica que comprende al menos un péptido como se describe en el presente documento, o una sal del mismo, y un fármaco que tiene un efecto inmunosupresor. En ciertas realizaciones, la composición terapéutica comprende una cantidad eficaz de un péptido como se describe en el presente documento, y una cantidad eficaz de un fármaco que tiene un efecto inmunosupresor. En una

realización, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1, que comprende una fosfoserina en la posición 10 y un fármaco que tiene un efecto inmunosupresor.

El péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1, en la que la serina en la posición 10 está fosforilada, corresponde al Compuesto III mostrado a continuación:

5



Como se usa en el presente documento, “un fármaco que tiene un efecto inmunosupresor o un efecto inmunomodulador” es un fármaco que inhibe o impide la actividad del sistema inmunitario de un sujeto (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano). Por ejemplo, los fármacos “que tienen un efecto inmunosupresor” incluyen:

10 corticoides tales como metil prednisolona; ciclofosfamidas; azatioprinas; hidroxicloroquinas; antimaláricos; micofenolato mofetil; metotrexato; agentes biológicos, por ejemplo, infliximab, etanercept, golimumab, adalimumab, certolizumab; y combinaciones de los anteriores. No se pretende que esta lista sea limitante de la invención. Por ejemplo, el experto puede determinar fácilmente otros fármacos conocidos que tienen un efecto inmunosupresor o inmunomodulador, sus cantidades eficaces y sus vías de administración.

15 En ciertas realizaciones, la descripción proporciona una composición terapéutica que comprende una cantidad eficaz de un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en al menos una de las SEQ ID NO: 4, 5, o una combinación de las mismas (es decir, que comprende péptidos de SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 4) y una cantidad eficaz de un fármaco que tiene un efecto inmunosupresor o inmunomodulador. En realizaciones adicionales, la composición puede comprender además un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO: 1, que comprende una fosfoserina en la posición 10.

20

En otro aspecto, la descripción proporciona una composición como se describe en el presente documento para su uso en un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria que comprende la etapa de administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de una composición farmacéutica como se describe en el presente documento, donde la composición es suficiente para efectuar dicho tratamiento.

25 En ciertas realizaciones, la enfermedad autoinmunitaria se elige entre: patologías autoinmunitarias de la familia de enfermedades del tejido conectivo (enfermedades sistémicas no específicas de órgano), por ejemplo, lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de Sjögren o artritis juvenil crónica; y/o patologías autoinmunitarias específicas de órgano, por ejemplo, esclerosis múltiple, diabetes dependiente de insulina, enfermedad de Crohn o enfermedades bulosas. En una realización preferida, la enfermedad autoinmunitaria es LES.

30

La descripción también proporciona un fármaco que comprende un péptido como se describe en el presente documento y/o una combinación como se describe en el presente documento, para su uso como un fármaco, en particular para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

35 En ciertas realizaciones, la enfermedad autoinmunitaria se elige entre: patologías autoinmunitarias de la familia de enfermedades del tejido conectivo (enfermedades sistémicas no específicas de órgano), por ejemplo, lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de Sjögren o artritis juvenil crónica; y/o patologías autoinmunitarias específicas de órgano, por ejemplo, esclerosis múltiple, diabetes dependiente de insulina, enfermedad de Crohn o enfermedades bulosas. En una realización preferida, la enfermedad autoinmunitaria es LES.

40 La descripción también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un péptido como se describe en el presente documento, o un producto de combinación como se ha descrito anteriormente, que incluye además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

45 Los péptidos (también denominados en el presente documento “compuestos activos”), como se describen en el presente documento, pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración. Dichas composiciones típicamente comprenden péptido y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, la expresión “vehículo farmacéuticamente aceptable” pretende incluir todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y para retrasar la absorción y similares, compatibles con la administración farmacéutica. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto cuando cualquier medio

o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones. También pueden incorporarse en las composiciones compuestos activos complementarios.

5 La descripción proporciona métodos para preparar composiciones farmacéuticas. Dichos métodos comprenden la formulación de un vehículo farmacéuticamente aceptable con un péptido como se describe en el presente documento. Dichas composiciones pueden incluir además agentes activos adicionales como se ha descrito anteriormente. De esta manera, la invención incluye además métodos para preparar una composición farmacéutica mediante la formulación de un vehículo farmacéuticamente aceptable con un péptido como se describe en el presente documento, y uno o más compuestos activos adicionales.

10 Una composición farmacéutica de la invención se formula para ser compatible con la vía de administración deseada. Los ejemplos de vías de administración incluyen la administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral, nasal (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa y rectal. Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico; 15 antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfato sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringuillas desechables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o plástico.

20 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL (BASF, Parsippany, N. J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida hasta tal medida que pueda 25 administrarse fácilmente a través de una jeringa. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el 30 mantenimiento del tamaño de partículas necesario en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico y similares. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede producirse incluyendo en la composición un 35 agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del compuesto activo (por ejemplo, un polipéptido o anticuerpo) en la cantidad necesaria en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un 40 medio de dispersión básico, y después incorporando los otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado al vacío y liofilización, que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución del mismo filtrada de forma estéril previamente.

45 Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Pueden encerrarse en cápsulas de gelatina o comprimirse en comprimidos. Para los fines de administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. También pueden prepararse composiciones orales usando un vehículo líquido para uso como un enjuague bucal, donde el compuesto en el vehículo líquido se aplica por vía oral y se utiliza para enjuagarse y escupirse o se traga.

50 Para la administración por inhalación, los compuestos se liberan en forma de una pulverización de aerosol desde un dispensador o recipiente presurizado que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono o un nebulizador.

La administración sistémica también puede realizarse por un medio transmucoso o transdérmico. Para la administración transmucosa o transdérmica, en la formulación se usan penetrantes apropiados para la barrera que se desea infiltrar. Dichos penetrantes se conocen en general en la técnica e incluyen, por ejemplo, para la 55 administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico. La administración transmucosa puede realizarse mediante el uso de pulverizaciones nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles o cremas como se conoce en general en la técnica.

Los compuestos también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio

convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para la administración rectal.

En una realización, los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán al compuesto frente a la eliminación rápida del cuerpo, tales como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de liberación microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables y biocompatibles tales como etilenoacetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los expertos en la materia. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente en Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También pueden usarse suspensiones de liposomas (incluyendo liposomas que tienen anticuerpos monoclonales incorporados en los mismos o sobre los mismos) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos n.º 4.522.811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de unidades de dosificación para facilitar la administración y conseguir una uniformidad en la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de unidad de dosificación de la invención viene dictada por y es directamente dependiente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se desea conseguir, y de las limitaciones intrínsecas en la técnica de la composición de dicho compuesto activo para el tratamiento de individuos.

En ciertas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, el método incluye la etapa de administrar una dosificación de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 5 mg de una composición terapéutica o farmacéutica como se describe en el presente documento. En ciertas realizaciones, por ejemplo, en seres humanos, la composición farmacéutica como se describe en el presente documento puede contener manitol como vehículo, y la composición se administra de 10 µg a 500 µg, preferentemente 200 µg, en una sola administración.

En ciertos aspectos adicionales, el régimen de dosificación puede reproducirse de 1 a 3 veces/semana, desde cada semana hasta una vez cada cuatro semanas, durante un periodo tan largo como sea necesario, con ventanas terapéuticas y, por lo tanto, durante varios años. En una realización preferida, el régimen de dosificación es de 12 semanas de tratamiento, pero puede repetirse dos veces al año durante varios años. Un ejemplo de la administración es: una inyección de 200 µg de péptido, cada 4 semanas, durante 12 semanas (es decir, 3 inyecciones separadas entre sí por 4 semanas).

El tratamiento puede prolongarse mediante la administración cada 6 meses.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables preferidos pueden comprender, por ejemplo, goma xantana, goma de algarroba, galactosa, otros sacáridos, oligosacáridos y/o polisacáridos, almidón, fragmentos de almidón, dextrinas, goma británica y mezclas de los mismos. Ventajosamente, el vehículo farmacéuticamente aceptable es de origen natural. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser, o puede comprender, además, un diluyente de sacárido inerte seleccionado entre un monosacárido o disacárido. Un sacárido preferido es manitol.

Ventajosamente, la invención se refiere a una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente, que está en forma de una gragea, comprimido, gelatina, cápsula, gota, píldora, liposoma o nanopartículas, o en forma de una solución. Una solución ventajosa es una solución que comprende de un 5 a un 15 %, en particular aproximadamente un 10 % de manitol. La solución debe ser isoosmolar.

La invención también se refiere a un fármaco que comprende un producto de combinación como se ha definido anteriormente, para uso simultáneo, separado o secuencial.

#### **Ejemplos**

##### Estadística

Se realizaron ensayos estadísticos usando GraphPad Prism versión 5.0. Se usó el ensayo ANOVA de dos vías para analizar el significado estadístico de las diferencias de proteinuria entre grupos de ratones de control y tratados con péptido. La supervivencia de ratones MRL/lpr hembra de control y tratados con un análogo de P140 se analizó por el método de Kaplan-Meier y el significado de las diferencias se determinó por el ensayo log-rank. Para las demás variables, el significado estadístico se evaluó usando el ensayo *t* de Student. Se consideraron significativos los valores de *p* menores de 0,05.

**Ejemplo 1: Síntesis química de los péptidos.**

El péptido P140 y P140(MO) se sintetizaron usando la química clásica en fase sólida Fmoc (N-[9-fluorenil]metoxicarbonilo) y se purificaron por cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (HPLC, Neimark y Briand, 1993, Monneaux y col., 2003, Eur. J. Immunol., 33, 287-296, Page y col., 2009, PloS ONE 4, e5273). Su homogeneidad se comprobó por HPLC analítica y su identidad se evaluó por LC/MS en un sistema Finnigan LCQ Advantage Max (Thermo Fischer Scientific). Después de finalizar la reacción, los péptidos se purificaron por HPLC.

Para introducir la fosforilación en el resto de serina equivalente al resto 140 de la SEQ ID NO: 3, se usó un derivado de serina de tipo Fmoc-Ser(PO(Obz)OH)-OH. El tiempo de acoplamiento se aumenta a 30 minutos y se realiza un segundo acoplamiento sistemáticamente. Después de la escisión en medio ácido, cada péptido se precipita por éter frío, se solubiliza en una solución de agua y acetonitrilo y finalmente se liofiliza. Los péptidos después se purifican por RP-HPLC, y su integridad y su pureza se analizan por HPLC analítica y por espectrometría de masas (Maldi-TOF).

La oxidación se introduce como se ha mencionado anteriormente.

**Ejemplo 2: estabilidad de los péptidos.**

La estabilidad del péptido SEQ ID NO: 2 en el que la serina en la posición 10 está fosforilada y la metionina en la posición 4 está oxidada (P140(MO)) y la estabilidad del péptido SEQ ID NO: 1 en el que la serina en la posición 10 está fosforilada (P140) se midieron a 37 °C, en una solución de manitol al 10 % (v/v). Para cada péptido, se han ensayado 3 concentraciones: 200, 100 y 50 µg/ml.

En el punto de tiempo indicado, se midió la integridad de los péptidos P140 y P140(MO) en solución salina por cromatografía líquida de alta resolución desde el área del pico correspondiente al péptido intacto.

Los resultados se muestran en la figura 1.

Las siguientes tablas 1 y 2 resumen los resultados:

Tabla 1

		P140(MO)			P140		
Estabilidad (%)	Días	200 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml
	0	100	100	100	100	100	100
	20	100	99,1	100	98,7	97,5	95,5
	40	100	99,5	100	98,5	96,2	93,2
	60	-	-	-	97,9	95,5	91,5
	80	-	-	-	97,6	94,5	90,3
	100	100	99,1	99,4	97,4	93,4	89,6

25

Tabla 2

		P140(MO)			P140		
Estabilidad (%)	Días	200 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml
	Ecuación lineal	y =100	y = - 0,0064x + 100,11	y = - 0,0064x + 99,677	y = - 0,0238x + 99,535	y = - 0,0612x + 99,25	y = - 0,099x + 98,299
	Coefficiente de correlación	N/A	R <sup>2</sup> = 0,8571	R <sup>2</sup> = 0,4157	R <sup>2</sup> = 0,8854	R <sup>2</sup> = 0,9538	R <sup>2</sup> = 0,9065
	95 % de estabilidad (predicho)	∞	2 años + 2 meses	2 años	6 meses	2 meses	1 mes

La estabilidad se mide usando la superficie del pico de HPLC.

La estabilidad de P140 M(O) permanece sin cambios (100 %, 99,1 % y 99,4 %) durante 100 días a 37 °C, para cada una de las concentraciones ensayadas (de 50 a 200 µg/ml).

5 La estabilidad de P140 se reduce a lo largo del tiempo y se reduce después de 100 días a 37 °C (97,4 %, 93,4 % y 89,6 %) para cada una de las concentraciones ensayadas (de 50 a 200 µg/ml).

Estos datos demuestran que la oxidación de la metionina en el péptido P140 aumenta la estabilidad del péptido. P140(MO) es estable a todas las concentraciones ensayadas durante más de 100 días.

### **Ejemplo 2: efecto terapéutico de los péptidos en ratones MRL/lpr.**

10 La cepa de ratón MRL/lpr es una subcepa de ratón que está genéticamente predispuesta al desarrollo de un síndrome parecido al lupus eritematoso sistémico que, según se ha observado, es clínicamente similar a la enfermedad humana. Se ha determinado que esta cepa de ratón lleva una mutación en el gen fas. Además, el MRL/lpr es un modelo útil para estudiar déficits conductuales y cognitivos encontrados en enfermedades autoinmunitarias y la eficacia de agentes inmunosupresores [Monneaux y col., 2003, Eur. J. Immunol. 33, 287-296].

#### **2.1- Análisis de supervivencia**

15 Ratones MRL/lpr hembra de cinco semanas de edad recibieron P140 o péptido P140(MO) por vía intravenosa como se describe (Monneaux y col., 2003, Eur. J. Immunol., 33, 287-296). Todos los protocolos experimentales se realizaron con la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (CREMEAS) local. Como control, a los ratones se les inyectó NaCl.

Se usaron 20 ratones para cada péptido o NaCl.

20 Los resultados se muestran en la figura 2.

Se ha aplicado un ensayo Log-rank (Mantel-Cox) y los resultados son los siguientes: NaCl vs P140 p = 0,0686, NaCl vs P140(MO) p = 0,0026, P140 vs P140 M(O) p = 0,2366.

25 La mediana de supervivencia de los ratones es: NaCl = 25 semanas, P140 = 29 semanas y P140(MO) > 40 semanas. Estos resultados demuestran la eficacia del péptido P140(MO) *in vivo* en el tratamiento de lupus, en ratones.

#### **2.2- Análisis de proteinuria**

Se midió la proteinuria de los ratones anteriores en orina recién recogida usando Albustix (Bayer Diagnostics) y se estimó semicuantitativamente de acuerdo con una escala de 0-4 recomendada por el fabricante (ausencia de proteinuria=0; trazas=1; 1+=2; 2+=3; 3+=4; 4+=5).

30 Los resultados se muestran en la figura 3.

En esta figura, se observa que la proteinuria es menos importante y aparece tarde en los ratones tratados con P140 M(O) en comparación con los ratones no tratados.

#### **2.3- Análisis de celularidad**

35 En ratones MRL/lpr se inyectaron 100 µg/100 µl de P140 o P140(MO) y se estudió la celularidad (sangre periférica) 5 días después de esta inyección única. El recuento incluye todos los leucocitos. Debido al bajo número de ratones ensayados, se ha realizado un ensayo estadístico no paramétrico Mann-Whitney).

Los resultados se muestran en la figura 4.

40 De esta manera, en un modelo murino agudo de lupus, el péptido de SEQ ID NO: 4 pudo reducir la hiper celularidad periférica y retrasar los signos biológicos y clínicos de la enfermedad con una eficacia al menos similar a la de P140, o mejor.

### **Ejemplo 3: afinidad de los péptidos para la proteína HSC70.**

45 Se usó un sistema BIAcore 3000 (Biacore AB) para evaluar la unión de péptidos P140 a la proteína HSC70 (Page y col., 2009 y 2011). La microplaca de detección CM5, el tensioactivo P20, el kit de acoplamiento de amina que contenía N-hidroxisuccinimida (NHS) y N-etil-N'-dimetilaminopropilcarbodiimida (EDC), 2-(2-piridinilditio)etanoamina (PDEA) y etanolamina procedían de Biacore AB. Los ensayos en el biosensor se realizaron con tampón HBS-EP como tampón de procesamiento (HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,005 %, pH 7,4). Los compuestos se diluyeron en el tampón de procesamiento. La superficie de la microplaca del sensor se regeneró después de cada experimento inyectando 10 µl de HCl 10 mM. Se inmovilizó HSC70 recombinante bovino (Stressgen) en celdas de flujo de una microplaca sensora CM5 a través de sus grupos tiol usando 35 µl de PDEA en

5 tampón borato 50 mM, pH 8,3 en la matriz activada por NHS/EDC. Después, se inyectaron 35  $\mu$ l de HSC70 (100  $\mu$ g/ml en tampón formiato, pH 4,3) hasta que se inmovilizó una respuesta de 13.000 unidades de respuesta (UR) correspondientes a 13 ng/mm<sup>2</sup> de HSC70. Se usaron 20  $\mu$ l de una solución de cisteína 50 mM/NaCl 1 M para saturar los sitios no ocupados en la microplaca. La medición de la unión directa de los péptidos P140 a HSC70 se realizó a 25 °C con un caudal constante de 20  $\mu$ l/min. El péptido P140 y sus análogos se inyectaron en el flujo a diferentes concentraciones durante 3 minutos, seguido de una fase de disociación de 3 minutos. Los parámetros cinéticos se calcularon usando el software BIAeval 3.1 en un ordenador personal. El análisis se realizó usando el modelo de unión Langmuir 1:1 sencillo. Los perfiles de unión específica se obtuvieron después de restar la señal de respuesta del canal vacío de control y de la inyección con tampón de control. El ajuste a cada modelo se juzgó por el valor  $\chi^2$  y la aleatoriedad de la distribución de restos en comparación con el modelo teórico.

10

Los resultados se muestran en las tablas 3 y 4, y en las figuras 5 y 6.

Estas tablas demuestran que la afinidad por HSC70 no es estadísticamente diferente entre los péptidos P140 y P140 M(O).

De esta manera, estos dos péptidos se unen con la misma eficacia a HSC70.

15

Tabla 3: P140 en HSC70

Péptido - concentración	ka (1/Ms)	kd (1/s)	Rmáx(RU)	RI (RU)	Conc. de analito	KA(1/M)	KD(M)	Req(RU)	kobs(1/s)	Chi2
	450		83,3							3,17
P140-1,56 µM		3,12E-03		12,1	1,56 u	1,44E+05	<b>6,94E-6</b>	15,3	3,82E-03	
P140-3,12 µM		3,12E-03		20,9	3,12 u	1,44E+05	<b>6,94E-6</b>	25,8	4,52E-03	
P140-6,25 µM		3,12E-03		33,8	6,25 u	1,44E+05	<b>6,94E-6</b>	39,5	5,93E-03	
P140-12,5 µM		3,12E-03		62,5	12,5 u	1,44E+05	<b>6,94E-6</b>	53,6	8,74E-03	
P140-25 µM		3,12E-03		118	25 u	1,44E+05	<b>6,94E-6</b>	65,2	0,0144	

Tabla 4: P140(MO) en HSC70

Péptido - concentración	ka(1/Ms)	kd(1/s)	Rmáx (RU)	RI(RU)	Conc. de analito	KA(1/M)	KD(M)	Req(RU)	kobs (1/s)	Chi2
	1,15E+3		39							1,18
P140(MO)-1,56 µM		2,20E-3		14	1,56 u	5,24E+5	1,91E-6	17,6	4,00E-03	
P140(MO)-3,12 µM		2,20E-3		18,7	3,12 u	5,24E+5	1,91E-6	24,2	5,80E-03	
P140(MO)-6,25 µM		2,20E-3		25,9	6,25 u	5,24E+5	1,91E-6	29,9	9,40E-03	
P140(MO)-12,5 µM		2,20E-3		36,9	12,5 u	5,24E+5	1,91E-6	33,9	0,0166	
P140(MO)-25 µM		2,20E-3		53,4	25 u	5,24E+5	1,91E-6	36,3	0,031	

ES 2 618 402 T3

<110> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE IMMUPHARMA France SA MULLER, Sylviane BRIAND, Jean-Paul ZIMMER, Robert

5 <120> PÉPTIDOS MODIFICADOS Y SU USO PARA TRATAR ENFERMEDADES AUTOINMUNITARIAS

<130> IWB 11 CJ CNR P140

<160> 6

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> derivado de U1 snRNP 70 kDa

20 <400> 1

Arg Ile His Met Val Tyr Ser Lys Arg Ser Gly Lys Pro Arg Gly Tyr  
1 5 10 15

Ala Phe Ile Glu Tyr 20

<210> 2

25 <211> 20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30 <223> derivado de U1 snRNP 70 kDa

<400> 2

Ile His Met Val Tyr Ser Lys Arg Ser Gly Lys Pro Arg Gly Tyr Ala  
1 5 10 15

Phe Ile Glu Tyr 20

35

<210> 3

<211> 437

<212> PRT

40 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

Met Thr Gln Phe Leu Pro Pro Asn Leu Leu Ala Leu Phe Ala Pro Arg  
1 5 10 15

ES 2 618 402 T3

Asp Pro Ile Pro Tyr Leu Pro Pro Leu Glu Lys Leu Pro His Glu Lys  
 20 25 30  
 His His Asn Gln Pro Tyr Cys Gly Ile Ala Pro Tyr Ile Arg Glu Phe  
 35 40 45  
 Glu Asp Pro Arg Asp Ala Pro Pro Pro Thr Arg Ala Glu Thr Arg Glu  
 50 55 60  
 Glu Arg Met Glu Arg Lys Arg Arg Glu Lys Ile Glu Arg Arg Gln Gln  
 65 70 75 80  
 Glu Val Glu Thr Glu Leu Lys Met Trp Asp Pro His Asn Asp Pro Asn  
 85 90 95  
 Ala Gln Gly Asp Ala Phe Lys Thr Leu Phe Val Ala Arg Val Asn Tyr  
 100 105 110  
 Asp Thr Thr Glu Ser Lys Leu Arg Arg Glu Phe Glu Val Tyr Gly Pro  
 115 120 125  
 Ile Lys Arg Ile His Met Val Tyr Ser Lys Arg Ser Gly Lys Pro Arg  
 130 135 140  
 Gly Tyr Ala Phe Ile Glu Tyr Glu His Glu Arg Asp Met His Ser Ala  
 145 150 155 160  
 Tyr Lys His Ala Asp Gly Lys Lys Ile Asp Gly Arg Arg Val Leu Val  
 165 170 175  
 Asp Val Glu Arg Gly Arg Thr Val Lys Gly Trp Arg Pro Arg Arg Leu  
 180 185 190  
 Gly Gly Gly Leu Gly Gly Thr Arg Arg Gly Gly Ala Asp Val Asn Ile  
 195 200 205  
 Arg His Ser Gly Arg Asp Asp Thr Ser Arg Tyr Asp Glu Arg Pro Gly  
 210 215 220  
 Pro Ser Pro Leu Pro His Arg Asp Arg Asp Arg Asp Arg Glu Arg Glu  
 225 230 235 240  
 Arg Arg Glu Arg Ser Arg Glu Arg Asp Lys Glu Arg Glu Arg Arg Arg  
 245 250 255  
 Ser Arg Ser Arg Asp Arg Arg Arg Arg Ser Arg Ser Arg Asp Lys Glu  
 260 265 270

ES 2 618 402 T3

Glu Arg Arg Arg Ser Arg Glu Arg Ser Lys Asp Lys Asp Arg Asp Arg  
 275 280 285

Lys Arg Arg Ser Ser Arg Ser Arg Glu Arg Ala Arg Arg Glu Arg Glu  
 290 295 300

Arg Lys Glu Glu Leu Arg Gly Gly Gly Gly Asp Met Ala Glu Pro Ser  
 305 310 315 320

Glu Ala Gly Asp Ala Pro Pro Asp Asp Gly Pro Pro Gly Glu Leu Gly  
 325 330 335

Pro Asp Gly Pro Asp Gly Pro Glu Glu Lys Gly Arg Asp Arg Asp Arg  
 340 345 350

Glu Arg Arg Arg Ser His Arg Ser Glu Arg Glu Arg Arg Arg Asp Arg  
 355 360 365

Asp Arg Asp Arg Asp Arg Asp Arg Glu His Lys Arg Gly Glu Arg Gly  
 370 375 380

Ser Glu Arg Gly Arg Asp Glu Ala Arg Gly Gly Gly Gly Gln Asp  
 385 390 400

Asn Gly Leu Glu Gly Leu Gly Asn Asp Ser Arg Asp Met Tyr Met Glu  
 405 410 415

Ser Glu Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Ala Pro Glu Asn Gly Tyr Leu Met  
 420 425 430

Glu Ala Ala Pro Glu  
 435

- <210> 4
- <211> 21
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- <220>
- <223> derivado de U1 snRNP 70 kDa
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (4)..(4)
- <223> OXIDACIÓN
  
- <220>
- <221> MOD\_RES
- <222> (10)..(10)
- <223> FOSFORILZACIÓN
  
- <400> 4

ES 2 618 402 T3

**Arg Ile His Met Val Tyr Ser Lys Arg Ser Gly Lys Pro Arg Gly Tyr**  
1 5 10 15

**Ala Phe Ile Glu Tyr**  
20

5 <210> 5  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> derivado de U1 snRNP 70 kDa

15 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> OXIDACIÓN

20 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (9)..(9)  
<223> FOSFORILZACIÓN

<400> 5

**Ile His Met Val Tyr Ser Lys Arg Ser Gly Lys Pro Arg Gly Tyr Ala**  
1 5 10 15

**Phe Ile Glu Tyr**  
20

25 <210> 6  
<211> 66  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> derivado de U1 snRNP 70 kDa

35 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (3)..(3)  
<223> n es a, c, g o t

40 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (15)..(15)  
<223> n es a, c, g o t

45 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (21)..(21)  
<223> n es a, c, g o t

50 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (27)..(27)  
<223> n es a, c, g o t

55 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (30)..(30)

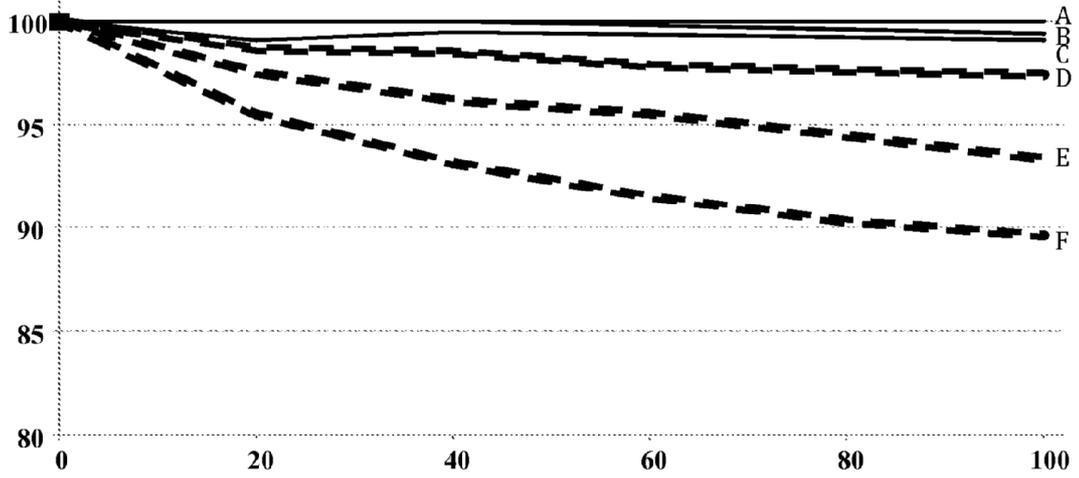
ES 2 618 402 T3

	<223> n es a, c, g o t	
	<220>	
5	<221> misc_feature	
	<222> (33)..(33)	
	<223> n es a, c, g o t	
	<220>	
10	<221> misc_feature	
	<222> (39)..(39)	
	<223> n es a, c, g o t	
	<220>	
15	<221> misc_feature	
	<222> (42)..(42)	
	<223> n es a, c, g o t	
	<220>	
20	<221> misc_feature	
	<222> (45)..(45)	
	<223> n es a, c, g o t	
	<220>	
25	<221> misc_feature	
	<222> (51)..(51)	
	<223> n es a, c, g o t	
	<400> 6	
	<b>mgnathcaya tggtntayws naarmgnwsn ggnaarccnm gnggtaygc nttyathgar</b>	<b>60</b>
30	<b>taytrr</b>	<b>66</b>

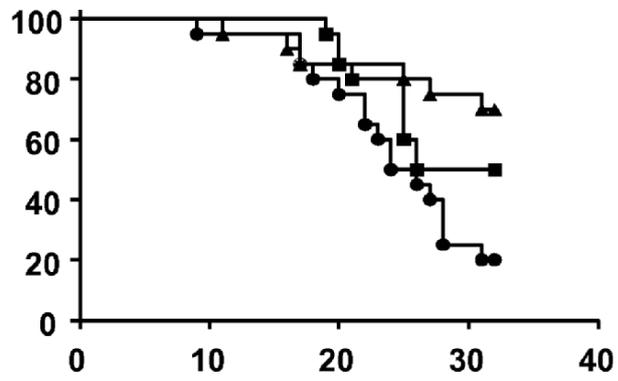
**REIVINDICACIONES**

1. Un péptido, o una sal del mismo, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2  
IHMVYSKRSGKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 2],  
que comprende una fosfoserina en la posición 9 y una metionina oxidada en la posición 3.
- 5 2. Un péptido, o sal del mismo, que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1  
RIHMVYSKRSGKPRGYAFIEY [SEQ ID NO: 1],  
que comprende una fosfoserina en la posición 10 y una metionina oxidada en la posición 4.
3. Una composición que comprende un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o ambas, y un fármaco que tiene un efecto inmunosupresor o un efecto inmunomodulador.
- 10 4. Una composición farmacéutica que comprende un péptido de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2, 3 o una combinación del mismo, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.
5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, que está en la forma de una gragea, comprimido, gelatina, cápsula, gota, píldora, liposoma, nanopartículas o en forma de una solución.
- 15 6. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4 o 5 para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria.
7. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que dicha enfermedad autoinmunitaria se selecciona del grupo que consiste en patologías autoinmunitarias de la familia de enfermedades del tejido conectivo (enfermedades sistémicas no específicas de órgano), preferentemente lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de Sjögren, artritis juvenil crónica; y patologías autoinmunitarias específicas de órgano, preferentemente esclerosis múltiple, diabetes dependiente de insulina, enfermedad de Crohn y enfermedades bulosas.
- 20 8. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, en la que dicha enfermedad autoinmunitaria es lupus eritematoso sistémico (LES).

Figura 1



**Figura 2**



**Figura 3**

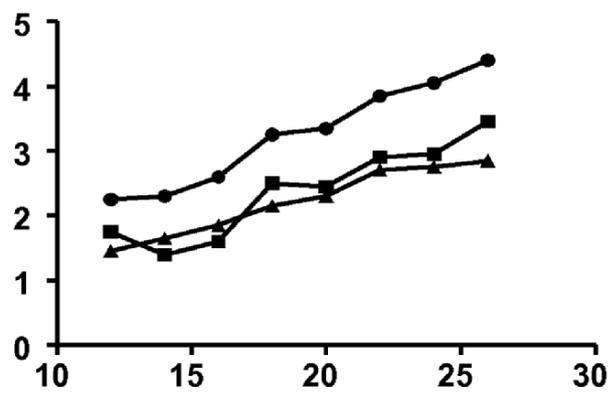
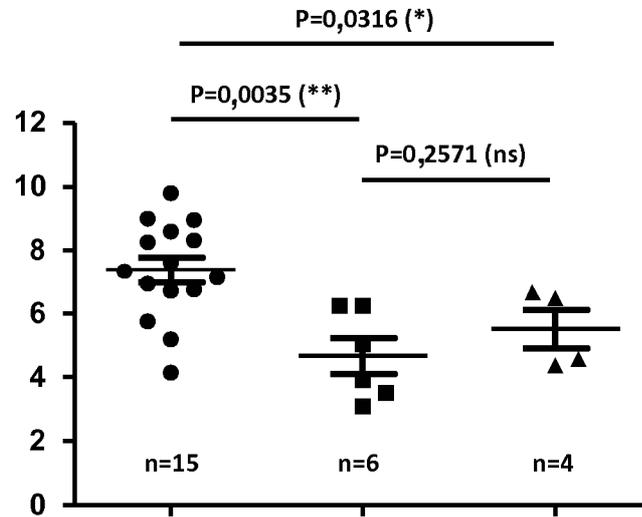
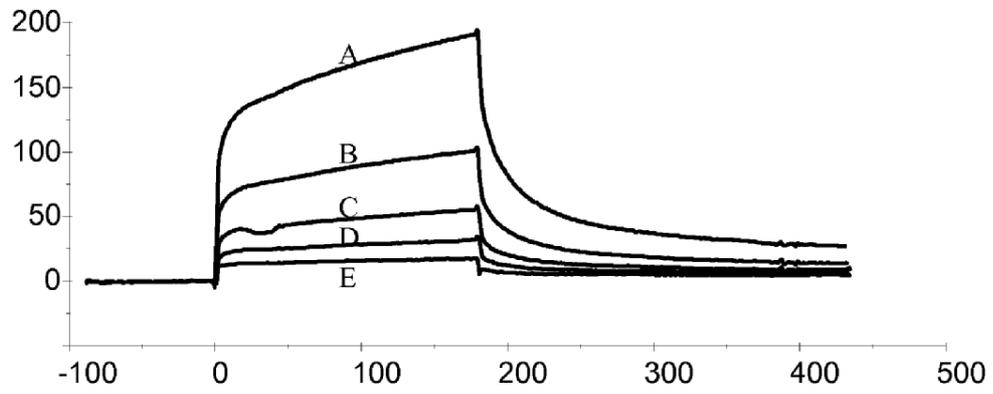


Figura 4



**Figura 5**



**Figura 6**

