

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 740 826**

51 Int. Cl.:

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

A61P 17/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.08.2012** **E 16169698 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019** **EP 3087999**

54 Título: **Péptidos de osteopontina modificados que tienen un dominio RGD inactivado y usos de estos**

30 Prioridad:

10.08.2011 GB 201113770

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

06.02.2020

73 Titular/es:

FOLLICUM AB (100.0%)

Scheelevägen 22

223 63 Lund, SE

72 Inventor/es:

ALENFALL, JAN;

DUNÉR, PONTUS y

HULTGÅRDH NILSSON, ANNA

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 740 826 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 de osteopontina modificados que tienen un dominio RGD inactivado y usos de estos

5 Campo de la invención

La presente descripción se refiere a agentes para estimular el crecimiento capilar en mamíferos. En particular, se proporcionan composiciones que comprenden un polipéptido de osteopontina modificado y el uso cosmético y farmacéutico de este para estimular el crecimiento capilar en mamíferos (incluyendo seres humanos).

10

Antecedentes

El crecimiento capilar es cíclico, ocurriendo en tres etapas: anagenia, la fase de crecimiento activo; catagenia, la fase degenerativa y telogenia, la fase de reposo. Después de la telogenia, se muda la fibra de cabello antigua y se genera un nuevo cabello como parte del ciclo repetido.

15

La alopecia, o pérdida del cabello, ocurre tanto en hombres como en mujeres, y se atribuye a numerosas causas incluyendo envejecimiento, niveles hormonales, estrés y quimioterapia. En estas circunstancias, cada vez más folículos pilosos permanecen en la etapa de telogenia, dando como resultado una disminución gradual de la longitud y diámetro de la fibra capilar, alcanzando finalmente la etapa de calvicie parcial o completa.

20

Son conocidos diversos tipos de pérdida del cabello, incluyendo alopecia areata, alopecia androgenética, efluvio anagénico, pérdida del cabello autoinducida, efluvio telogénico y alopecia cicatrizante. La alopecia areata, que se cree que es un trastorno autoinmunitario, empieza con pérdida del cabello en una placa redondeada del cuero cabelludo. La alopecia areata incluye la pérdida del cabello por placas moderada en el cuero cabelludo, así como la pérdida de todo el cabello del cuero cabelludo, conocida como alopecia total, y la pérdida de todo el cabello del cuero cabelludo y el vello corporal, conocido como alopecia universal. La alopecia androgenética, incluyendo calvicie de patrón masculino y femenino, se cree que está causada por una combinación de predisposición genética, envejecimiento y niveles hormonales androgénicos. La alopecia androgenética está asociada a una estimulación androgénica aumentada, que afecta adversamente a los folículos pilosos. La estimulación androgénica aumentada puede producirse por, entre otros mecanismos, niveles elevados de 5-alfa-reductasa, una enzima que convierte la testosterona en dihidrotestosterona. El efluvio anagénico es la pérdida del cabello debida a productos químicos o radiación, tal como quimioterapia o tratamiento de radiación para el cáncer. La pérdida del cabello autoinducida incluye pérdida del cabello causada por daño autoinfligido consciente o inconscientemente al cabello. Son dos tipos comunes de daño autoinducido al cabello la tricotilomanía, o pérdida del cabello resultante cuando alguien tira continuamente o arranca su propio cabello, y alopecia de tracción, que está causada por peinados tales como colas de caballo o trenzas que tiran continuamente del cabello. El efluvio telogénico es la pérdida del cabello relacionada con el estrés causado por eventos tales como, por ejemplo, cirugía, parto o terminación del embarazo. Las causas adicionales de efluvio telogénico incluyen el uso de anticonceptivos orales u otros fármacos con receta, anormalidad tiroidea, diabetes, lupus y estrés emocional. La alopecia cicatrizante incluye pérdida del cabello causada por infección e inflamación de los folículos pilosos, y pérdida del cabello causada por quemaduras u otros traumatismos.

35

40

La pérdida del cabello es un problema extendido que se considera por algunos que es cosméticamente poco atractivo y a menudo causa sufrimiento emocional al individuo afectado. Como consecuencia, hay una gran demanda de tratamientos de alopecia. Se han ensayado en muchas composiciones su capacidad de estimular el crecimiento capilar, por ejemplo promoviendo o prolongando la anagenia. Los ejemplos de dichas composiciones incluyen abridores de canal de potasio tales como minoxidil (Regaine RTM., Pharmacia Corp.) y diazóxido; inhibidores de 5-alfa-reductasa tales como finasterida (Propecia RTM., Merck & Co.) y el inmunosupresor ciclosporina A.

50

Sin embargo, dichos tratamientos conocidos para estimular el crecimiento capilar exhiben una efectividad limitada y causan efectos secundarios indeseados. Por ejemplo, entre otros efectos secundarios indeseables, los abridores de canal de potasio causan efectos cardiovasculares, la finasterida es insegura para mujeres que están embarazadas o pueden quedarse embarazadas y la ciclosporina A suprime el sistema inmunitario. Además, incluso cuando se aplican por vía tópica a las zonas en que se desea el crecimiento capilar, los tratamientos conocidos para alopecia causan a menudo el crecimiento capilar en zonas indeseadas del cuerpo, tales como el vello facial en mujeres. Dichas desventajas de las composiciones conocidas para tratar la alopecia conducen a muchos individuos que experimentan pérdida del cabello a confiar en pelucas y peluquines. Otros individuos buscan la cirugía de trasplante de cabello, que es cara, no es totalmente efectiva y a veces no es posible, por ejemplo para pacientes de

55

quimioterapia.

Por consiguiente, existe la necesidad de nuevos tratamientos para estimular el crecimiento capilar adecuados para uso tanto en aplicaciones médicas como cosméticas.

5 EP1375518 desvela un anticuerpo antiosteopontina que inhibe la unión entre una integrina que reconoce la secuencia RGD y OPN o un fragmento de esta.

10 WO / 2008/086449 desvela polipéptidos de osteopontina modificados en los que el dominio RGD ha sido inactivado por eliminación para uso terapéutico, como apoplejía y otras lesiones isquémicas.

Da-Wen Yu et al., desvela la expresión génica de osteopontina por células de papila dérmica de folículos de pelaje durante catágenos pero no en fases anágenas y telógenas.

15 Yohko U Katagiri et al., desvela polipéptidos de osteopontina modificados en los que el dominio RGD ha sido inactivado por eliminación.

Donald Courter et al., desvela la expresión de isoformas de OPN con el dominio RGD mutado o eliminado.

20 WO/2005/066339 desvela polipéptidos codificados por polinucleótidos comprendidos en el genoma de *Alicyclobacillus*, procedimiento para producir estos polipéptidos y composiciones que comprenden estos polipéptidos.

25 WO/2001/84159 desvela procedimientos para inducir y detectar la señalización del receptor de LDL.

WO/1996/32961 desvela que la osteopontina modula el crecimiento del cabello folicular.

Resumen

30 El primer aspecto de la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63 o un fragmento de esta, que retiene una actividad estimuladora del crecimiento del cabello de la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63. El segundo aspecto de la presente descripción proporciona una composición que comprende:

- 35 (a) un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y
- (b) un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable y/o cosméticamente aceptable.

Descripción detallada

40 La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. Cualquier realización que no esté dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forma parte de la invención.

El componente activo de las composiciones de la descripción deriva de una proteína osteopontina de origen natural (concretamente, el polipéptido comprende una secuencia aminoacídica correspondiente a la de una versión
45 modificada, por ejemplo mutada, de una proteína osteopontina de origen natural).

La osteopontina, también conocida como sialoproteína ósea 1 (BSP-1 o BNSP), factor de activación temprana de linfocitos T (ETA-1), fosfoproteína secretada 1 (SPP1), 2ar y resistencia a Rickettsia (Ric), es un producto génico que está conservado en varias especies de mamífero.

50 El gen tiene varios exones, cubre 5 kilobases de longitud y en seres humanos está localizado en el brazo largo del cromosoma 4, región 13 (4q13). La proteína está compuesta por ~300 residuos aminoacídicos y es rica en residuos ácidos: 30-36 % son ácido aspártico o ácido glutámico. La osteopontina tiene ~30 residuos carbohidrato enlazados, incluyendo 10 residuos de ácido siálico, que se enlazan con la proteína durante la modificación postraducciona en el
55 aparato de Golgi.

La osteopontina se descubrió por primera vez como una sialoproteína novedosa en osteoclastos de anclaje óseo sobre una matriz ósea mineralizada (Franzen y Heinegard, 1985, *Biochem. J.* **232**(3) 715-24). El nombre *osteopontina* proviene de la presencia de la proteína en hueso (*osteo-*) y su capacidad de formar puentes (*-pons*)

entre las células óseas y la fase mineral. El análisis de secuencia y posteriores estudios estructurales mostraron que la osteopontina es una glicoproteína de 32 kDa compuesta por una región altamente ácida de unos 10 residuos de ácido aspártico que se cree que media las propiedades de unión mineral de la osteopontina. Además, en la porción media de la molécula de osteopontina, hay también un dominio de enlace celular mediado a través de una

La osteopontina se expresa constitutivamente en osteoblastos y en varios tipos celulares epiteliales, dando como resultado que la osteopontina se secrete en muchos fluidos corporales. El hueso es el único tipo de tejido donde se deposita osteopontina y del que puede recuperarse en grandes cantidades. La expresión de osteopontina puede inducirse también en células de músculo liso vascular, en diferentes tipos de células cancerosas y entre las células inflamatorias (específicamente, macrófagos y linfocitos T). Se han atribuido varias funciones celulares importantes a la osteopontina, tales como adhesión, proliferación, migración, antiapoptosis y quimioatracción. Se cree que algunas de estas funciones están mediadas a través del dominio de adhesión celular RGD que interacciona con diferentes integrinas, principalmente con $\alpha v \beta 3$ pero también $\alpha v \beta 1$ y $\alpha v \beta 5$ (para revisión, véase Scatena y col., 2007, *Arterio. Thromb. Vasc. Biol.* **27**: 2302-2309).

En los últimos años, la osteopontina ha surgido como una potente citocina capaz de modular varios tipos celulares implicados en la inflamación y respuestas inmunitarias. El amplio intervalo de funciones que se atribuye a la osteopontina ha sido desconcertante y no todo puede explicarse por la única secuencia RGD de unión celular. La explicación llegó cuando se identificó un péptido de 11 aminoácidos en la osteopontina R¹⁴⁵-G-D-S-L-A-Y-G-L-R-S¹⁵⁵ (SEQ ID NO: 122) (correspondiente a los aminoácidos 144 to 154 del código UniProt P10923) y se cartografió funcionalmente después. Además del sitio R¹⁴⁵-G-D¹⁴⁷ conocido que media la unión a la integrina $\alpha v \beta 3$, se descubrieron dos regiones esenciales adicionales en la molécula de osteopontina, a saber un sitio de escisión de trombina altamente específico, concretamente R¹⁵⁴-S¹⁵⁵, y un sitio de unión a integrina críptico, concretamente S¹⁴⁸-L-A-Y-G-L-R¹⁵⁴ (SEQ ID NO: 123), que se une a una integrina $\alpha 9 \beta 1$ (véase Scatena y col., *supra*). Se ha identificado también un sitio de unión adicional para $\alpha 4 \beta 1$ (véase Scatena y col., *supra*).

Es un rasgo característico del polipéptido derivado de osteopontina en las composiciones de la descripción que el dominio RGD naturalmente presente en la osteopontina se inactiva de tal modo que no es funcional (al menos en parte). Por ejemplo, la inactivación del dominio RGD puede prevenir que el polipéptido derivado de osteopontina se una a una o más de las integrinas a que se une la proteína osteopontina de origen natural.

Por tanto, en "polipéptido de osteopontina modificado" se incluyen polipéptidos correspondientes a una forma modificada de una proteína osteopontina de origen natural en que el dominio RGD no es funcional (el menos en parte), así como fragmentos y variantes de los mismos que retienen la propiedad estimuladora capilar de la osteopontina modificada "completa". Por ejemplo, el dominio RGD no funcional del polipéptido de osteopontina modificado puede ser incapaz de unirse a la integrina $\alpha v \beta 3$ (véase Scatena y col., *supra*).

Ventajosamente, la proteína osteopontina de origen natural es de mamífero, p. ej. de ser humano.

Los polipéptidos de osteopontina modificados presentes en las composiciones de la descripción son capaces de estimular el crecimiento capilar en mamíferos.

En una realización de la presente descripción, el polipéptido es capaz de estimular el crecimiento de cabello humano.

En una realización adicional de la presente descripción, el polipéptido es capaz de estimular el crecimiento de cabello *in vivo*.

En una realización adicional de la presente descripción, el polipéptido es capaz de estimular el crecimiento de cabello *in vivo* con mayor eficacia que la osteopontina humana de tipo silvestre. Por "mayor eficacia", en este contexto, se incluye un inicio de acción más rápido y/o eficacia a una menor dosis y/o mayor efecto máximo (p. ej., mayor número de nuevos folículos o densidad del cabello). En una realización de la presente descripción, el polipéptido es capaz de estimular el crecimiento de cabello *in vivo* con un inicio de acción más rápido y un mayor efecto de crecimiento capilar máximo que la osteopontina humana de tipo silvestre a la misma dosis (p. ej., véase el Ejemplo B).

Se apreciará por los especialistas en la materia que la estimulación del crecimiento capilar puede estar mediada por un efecto de los folículos pilosos existentes y/o induciendo la formación de nuevos folículos pilosos.

Por tanto, en una realización de la presente descripción, el polipéptido de osteopontina modificado es capaz de estimular los folículos pilosos existentes (por ejemplo, prolongando la fase anagénica y/o acortando la fase telogénica de tal modo que los folículos restantes se vuelvan activos).

- 5 En una realización adicional de la presente descripción, el polipéptido es capaz de inducir la formación de nuevos folículos pilosos, o de células madre para producir los mismos.

Las proteínas de osteopontina de origen natural tienen típicamente una longitud de alrededor de 300 aminoácidos. Sin embargo, los expertos en la técnica apreciarán que los polipéptidos de osteopontina modificados presentes en

- 10 las composiciones de la divulgación pueden variar de esta longitud.

Típicamente, el polipéptido tiene una longitud menor que 500 aminoácidos, por ejemplo menos que 400, 350, 340, 330, 320, 310, 300, 290, 280, 270, 260, 250, 200, 150, 100, 50, 40, 30, 20, 15, 10 o menos aminoácidos de longitud.

- 15 En una realización de la presente descripción, el polipéptido tiene una longitud de entre 250 y 350 aminoácidos, por ejemplo, una longitud de entre 280 y 300 aminoácidos (por ejemplo, una longitud de 293 aminoácidos).

En una realización alternativa de la presente descripción, el polipéptido tiene una longitud de entre 10 y 20 aminoácidos, por ejemplo de entre 12 y 18 aminoácidos (por ejemplo, de 15 aminoácidos).

- 20 Como se discute anteriormente, los polipéptidos de osteopontina modificados carecen de la secuencia tripeptídica activa "arginina-glicina-ácido aspártico" encontrada normalmente en proteínas osteopontina de origen natural. Se apreciará que este dominio RGD puede inactivarse mediante una serie de estrategias diferentes.

- 25 En una realización de la presente descripción, el dominio RGD está mutado en uno o más aminoácidos en el polipéptido de osteopontina modificado, de manera que contiene una o más delecciones, sustituciones y/o adiciones, o combinaciones de las mismas, en relación con una proteína de osteopontina de origen natural.

Por ejemplo, el dominio RGD puede eliminarse, al menos en parte, de manera que la arginina y/o glicina y/o el

- 30 residuo de ácido aspártico estén ausentes.

Alternativamente, o además, el dominio RGD puede estar sustituido en uno o más aminoácidos. Por ejemplo, el residuo de arginina y/o glicina y/o ácido aspártico puede estar sustituido con otro aminoácido. Tales sustituciones pueden ser conservativas o no conservativas.

- 35 Asimismo, el dominio RGD puede inactivarse mediante una combinación de sustituciones y eliminaciones, que incluyen:

- (a) sustitución del residuo de arginina y eliminación de los residuos de glicina y ácido aspártico;
40 (b) sustitución de los residuos de arginina y glicina y eliminación del residuo de ácido aspártico (por ejemplo, el tripéptido -RGD- puede reemplazarse con la secuencia dipeptídica -DI-);
(c) sustitución de los residuos de arginina y ácido aspártico y eliminación del residuo de glicina; o
(d) eliminación de los residuos de arginina y ácido aspártico y sustitución del residuo de glicina.

- 45 En una realización de la presente descripción, la secuencia tripéptido -RGD- se reemplaza por la secuencia dipéptido -DI-.

Sin querer limitarse por ninguna teoría, se cree que la inactivación de la secuencia de RGD puede dar lugar a un cambio conformacional en el polipéptido de osteopontina (en relación con la proteína de osteopontina de origen

- 50 natural correspondiente), lo que conduce a la creación/exposición de un nuevo sitio para el medio circundante.

En una realización preferida, el polipéptido de osteopontina modificado comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 1 (en la que la región que abarca el dominio RGD inactivado está subrayada):

MRLAVICFCLFGIASSLPVKVTDSGSSEEKLYSLHPDPIATWLVDPDSQKQNLAPQNAVSSSEKDDFKQET
 LPSNSNESHDMDDDDDDDDGDHAESEDSVDSDESDESHHSEDETASTQADTFPIVPTVDVDPNGD
ISLAYGLRSKSRSFQVSEQYPDATDEDLTSHMKSSESLESLDVIPVAQLLSMPDQDNNGKGSHESSQLDE
 PSLETHRLEHSKESQESADQSDVIDSQASSKASLEHQSHKFHSHKDKLVDPKSKEDDRYLKFRISHELESS
 SSEVN

SEQ ID NO: 1

o un fragmento, variante, derivado o fusión del mismo (o una fusión de dicho fragmento, variante o derivado) que retiene (al menos en parte) una actividad estimuladora del crecimiento del cabello de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 1.

5

El término "aminoácido", como se utiliza en el presente documento, incluye los veinte aminoácidos estándar codificados genéticamente y sus estereoisómeros correspondientes en la forma "D" (en comparación con la forma natural "L"), omega-aminoácidos y otros aminoácidos presentes de forma natural, aminoácidos no convencionales (p. ej., aminoácidos α,α -disustituidos, aminoácidos N-alquilos, etc.) y aminoácidos derivados químicamente (ver más

10

adelante). Cuando un aminoácido se enumera específicamente, como 'alanina' o 'Ala' o 'A', el término se refiere tanto a L-alanina como a D-alanina a menos que se indique explícitamente lo contrario. Otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes adecuados para los polipéptidos de la presente descripción, siempre que la

15

propiedad funcional deseada sea retenida por el polipéptido. Para los polipéptidos mostrados, cada residuo de aminoácido codificado, donde sea apropiado, se representa con una designación de una sola letra, correspondiente al nombre trivial del aminoácido convencional. Según la convención, las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento se proporcionan en el extremo N a la dirección del extremo C.

20

Típicamente, los polipéptidos de osteopontina modificados usados en las composiciones de la divulgación comprenden o consisten en L-aminoácidos. Por "fragmento" incluimos al menos 6 aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 1, por ejemplo al menos 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 210, 220, 230, 240,

25

250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 286, 287, 288, 289 290, 291 o 292 aminoácidos contiguos de la SEC ID NO: 1.

30

Por ejemplo, el fragmento o variante puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos según cualquiera de las SEC ID NO: 63 a 120 (como se detalla a continuación).

En una realización particular de la presente descripción, el polipéptido comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 63.

VDTYDGDISVYGLR **SEC ID NO: 63** ["FOL-005"]

35

Por ejemplo, el polipéptido puede comprender o consistir en un derivado de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 63.

Los derivados químicos de uno o más aminoácidos se pueden lograr por reacción con un grupo lateral funcional. Dichas moléculas derivatizadas incluyen, por ejemplo, aquellas moléculas en las que los grupos amino libres se han derivado para formar clorhidratos de amina, grupos sulfonilo *p*-tolueno, grupos carboxibenzoxi, grupos *t*-butiloxicarbonilo, grupos cloroacetilo o grupos formilo. Los grupos carboxilo libres se pueden derivar para formar sales, ésteres metílicos y etílicos u otros tipos de ésteres e hidrazidas. Los grupos hidroxilo libres se pueden derivar para formar derivados O-acilo u O-alquilo. También se incluyen como derivados químicos aquellos péptidos que contienen derivados de aminoácidos de origen natural de los veinte aminoácidos estándar. Por ejemplo: 4-hidroxiprolina puede ser sustituida por prolina; la 5-hidroxilisina puede ser sustituida por la lisina; la 3-metilhistidina puede ser sustituida por la histidina; la homoserina puede ser sustituida por serina y la ornitina por lisina. Los derivados también incluyen péptidos que contienen una o más adiciones o eliminaciones, siempre que se mantenga la actividad requerida. Otras modificaciones incluidas son la amidación, la acilación del terminal amino (por ejemplo, la acetilación o la amidación del ácido tioglicólico), la carboxilamidación terminal (por ejemplo, con amoníaco o

40

45

50

Los expertos en la técnica apreciarán además que los compuestos peptidomiméticos también pueden ser útiles, que imitan la conformación y las características deseables de los polipéptidos de osteopontina modificados detallados anteriormente.

Por ejemplo, los polipéptidos de la divulgación incluyen no solo moléculas en las que los residuos de aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos (-CO-NH-), sino también moléculas en las que se invierte el enlace peptídico. Dichos peptidomiméticos retro-inversos pueden prepararse utilizando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, como los descritos en Meziere et al. (1997) *J. Immunol.* **159**, 3230-3237. Este procedimiento implica hacer pseudopéptidos que contengan cambios que involucren el esqueleto y no la orientación de las cadenas laterales. Los péptidos retroinversos, que contienen enlaces NH-CO en lugar de enlaces peptídicos CO-NH, son mucho más resistentes a la proteólisis. Alternativamente, el polipéptido de la divulgación puede ser un compuesto peptidomimético en el que uno o más de los residuos de aminoácidos están unidos por un enlace -y (CH₂NH)- en lugar del enlace amida convencional.

En una alternativa adicional, el enlace peptídico se puede prescindir del todo a condición de que se use un resto enlazador apropiado que retenga la separación entre los átomos de carbono de los residuos de aminoácidos; puede ser ventajoso que el resto enlazador tenga sustancialmente la misma distribución de carga y sustancialmente la misma planaridad que un enlace peptídico.

Se apreciará que el polipéptido puede estar bloqueado convenientemente en su extremo N o C para ayudar a reducir la susceptibilidad a la digestión exoproteolítica.

Una variedad de aminoácidos no codificados o modificados, tales como D-aminoácidos y N-metilaminoácidos, también se han utilizado para modificar polipéptidos de mamíferos. Además, una presunta conformación bioactiva puede estabilizarse mediante una modificación covalente, como la ciclación o la incorporación de lactama u otros tipos de puentes, por ejemplo, ver Veber et al., 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**:2636 y Thursell et al., 1983, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **111**:166.

Un tema común entre muchas de las estrategias sintéticas ha sido la introducción de algunos restos cíclicos en una estructura basada en péptidos. El resto cíclico restringe el espacio conformacional de la estructura peptídica y esto frecuentemente da como resultado una especificidad incrementada del péptido para un receptor biológico concreto. Una ventaja añadida de esta estrategia es que la introducción de un resto cíclico en un péptido también puede dar como resultado que el péptido tenga una sensibilidad disminuida a las peptidasas celulares.

Por lo tanto, los polipéptidos ejemplares de la descripción comprenden aminoácidos de cisteína terminales. Dicho polipéptido puede existir en una forma cíclica heterodética por la formación de enlaces disulfuro de los grupos mercaptidas en los aminoácidos de cisteína terminales o en una forma homodética por la formación de enlaces péptido amida entre los aminoácidos terminales. Como se indicó anteriormente, la ciclación de pequeños péptidos a través de enlaces disulfuro o amida entre las cisteínas de las regiones N y C-terminal puede evitar problemas de especificidad y vida media en algún momento observados con péptidos lineales, al disminuir la proteólisis y también aumentar la rigidez de la estructura, que puede producir compuestos de mayor especificidad. Los polipéptidos ciclados por enlaces disulfuro tienen extremos amino y carboxi libres que aún pueden ser susceptibles a la degradación proteolítica, mientras que los péptidos se ciclan por formación de un enlace amida entre la amina N-terminal y el carboxilo C-terminal y, por lo tanto, ya no contienen terminaciones amino o carboxi. Por lo tanto, los péptidos de la presente descripción se pueden enlazar mediante un enlace C-N o un enlace disulfuro.

La presente descripción no está limitada de ninguna manera por el procedimiento de ciclación de péptidos, sino que abarca péptidos cuya estructura cíclica puede lograrse mediante cualquier procedimiento de síntesis adecuado. Por lo tanto, los enlaces heterodéticos pueden incluir, pero no se limitan a la formación a través de puentes disulfuro, alquileo o sulfuro. Los procedimientos de síntesis de péptidos homodéticos cíclicos y péptidos heterodéticos cíclicos, que incluyen puentes disulfuro, sulfuro y alquileo, se desvelan en el documento US 5 643 872. Otros ejemplos de procedimientos de ciclación incluyen la ciclación a través de la química clic, los epóxidos, las reacciones aldehído-amina, así como los procedimientos descritos en el documento US 6 008 058.

Tales modificaciones terminales son útiles, como es bien sabido, para reducir la susceptibilidad mediante la digestión con proteinasas y, por lo tanto, para prolongar la vida media de los péptidos en disoluciones, particularmente en fluidos biológicos en los que pueden estar presentes proteasas. La ciclación de polipéptidos también es una modificación útil debido a las estructuras estables formadas por la ciclación y en vista de las actividades biológicas observadas para los péptidos cíclicos.

De este modo, en una realización de la presente descripción, el polipéptido del primer aspecto de la presente descripción es cíclico.

Sin embargo, en una realización alternativa de la presente descripción, el polipéptido es lineal.

5

En una realización preferida de la presente descripción, sin embargo, el polipéptido de osteopontina modificado comprende uno o más aminoácidos modificados o derivados por PEGilación, amidación, esterificación, acilación, acetilación y/o alquilación.

10 Los expertos en la técnica apreciarán que el polipéptido de osteopontina modificado puede estar glicosilado en uno o más aminoácidos. Por ejemplo, el polipéptido puede retener uno o más de los sitios de glicosilación de la proteína de osteopontina correspondiente ('parental'), a la que puede unirse un grupo de carbohidratos.

Por ejemplo, el polipéptido puede comprender una fusión de la secuencia de aminoácidos SEC ID NO: 63.

15

Por ejemplo, dicho polipéptido puede fusionarse con un polipéptido tal como glutatión-S-transferasa (GST) o proteína A para facilitar la purificación de dicho polipéptido. Los expertos en la técnica conocen bien ejemplos de tales fusiones. De manera similar, dicho polipéptido puede fusionarse con un marcador de oligohistidina como His6 o con un epítipo reconocido por un anticuerpo como el conocido epítipo marcador Myc. Las fusiones a cualquier variante o derivado de dicho polipéptido también se incluyen en el alcance de la descripción.

20

La fusión puede comprender una porción adicional que confiere una característica deseable sobre dicho polipéptido de la descripción; por ejemplo, la porción puede ser útil para aumentar o prolongar el efecto estimulante del crecimiento del cabello. Por ejemplo, en una realización de la presente descripción, la fusión comprende albúmina de suero humano o proteína similar (como se desvela en el documento US 2009/0005312).

25

Alternativamente, la porción fusionada puede ser una molécula lipófila o un dominio polipeptídico que es capaz de promover la captación celular del polipéptido, como es conocido por los expertos en la técnica.

30 En una realización adicional de la presente descripción, el polipéptido de osteopontina modificado comprende o consiste en repeticiones en tándem de una secuencia de aminoácidos. Alternativamente, el polipéptido puede comprender o consistir en repeticiones en tándem de la secuencia de aminoácidos SEC ID NO: 63.

En una realización preferida adicional de la presente descripción, el polipéptido de osteopontina modificado simplemente comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos SEC ID NO: 63. Por ejemplo, el polipéptido puede consistir en el polipéptido según la SEC ID NO: 63.

35

Los polipéptidos de osteopontina modificados adecuados para uso en las composiciones de la descripción pueden elaborarse mediante procedimientos de expresión de base celular *in vitro* bien conocidos por los especialistas en la materia (por ejemplo, véase Sambrook y Russell, 2000, "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", 3ª edición, Cold Spring Harbor, Nueva York). La elección del vector de expresión y la célula hospedadora para usar puede depender de una serie de factores. Por ejemplo, si el polipéptido de osteopontina modificado se va a glicosilar, se requerirá un sistema de expresión de mamífero.

40

45 Los vectores de expresión y células hospedadoras adecuados están comercialmente disponibles en muchas fuentes.

Como alternativa, los polipéptidos de osteopontina modificados pueden sintetizarse mediante medios conocidos, tales como síntesis en fase líquida y fase sólida (por ejemplo, síntesis peptídica en fase sólida con *terc-Boc* y BOP-SPPS).

50

Se apreciará por los especialistas en la materia que la presente descripción incluye también sales de adición de ácido o base farmacéutica y/o cosméticamente aceptables de los polipéptidos de osteopontina modificados descritos anteriormente. Los ácidos que se usan para preparar las sales de adición de ácido farmacéutica y/o cosméticamente aceptables de los compuestos básicos anteriormente mencionados útiles en esta descripción son aquellos que forman sales de adición de ácido no tóxicas, concretamente sales que contienen aniones farmacéutica y/o cosméticamente aceptables tales como sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, lactato, citrato, citrato ácido, tartrato, bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato, sacarato, benzoato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato

55

[concretamente 1,1'-metilenbis-(2-hidroxi-3-naftoato)], entre otras.

Las sales de adición de base farmacéutica y/o cosméticamente aceptables pueden usarse también para producir formas de sal farmacéutica y/o cosméticamente aceptables de los polipéptidos de osteopontina modificados. Las bases químicas que pueden usarse como reactivos para preparar sales de base farmacéutica y/o cosméticamente aceptables de los presentes compuestos que son de naturaleza ácida son aquellas que forman sales básicas no tóxicas con dichos compuestos. Dichas sales básicas no tóxicas incluyen, pero sin limitación, aquellas derivadas de aquellos cationes farmacéutica y/o cosméticamente aceptables tales como cationes de metal alcalino (p. ej., potasio y sodio) y cationes de metal alcalinotérreo (p. ej., calcio y magnesio), amonio o sales de adición de amina hidrosolubles tales como N-metilglucamina (meglumina) y alcanolamonio inferior y otras sales básicas de aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables, entre otras.

Se apreciará además que los polipéptidos de osteopontina modificados de la descripción pueden liofilizarse para almacenamiento y reconstituirse en un vehículo adecuado antes del uso. Puede emplearse cualquier procedimiento de liofilización (p. ej., secado por pulverización, secado de torta) y/o técnica de reconstitución adecuado. Se apreciará por los especialistas en la materia que la liofilización y reconstitución pueden conducir a grados variables de pérdida de actividad y que los niveles de uso pueden tener que ajustarse al alza para compensar. Preferiblemente, el polipéptido liofilizado pierde no más de aproximadamente un 20 %, o no más de aproximadamente un 25 %, o no más de aproximadamente un 30 %, o no más de aproximadamente un 35 %, o no más de aproximadamente un 40 %, o no más de aproximadamente un 45 %, o no más de aproximadamente un 50 % de su actividad (antes de la liofilización) cuando se rehidrata.

Los polipéptidos de osteopontina modificados se proporcionan en forma de una composición que comprende el polipéptido y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable y/o cosméticamente aceptable, seleccionado con respecto a la vía pretendida de administración y la práctica farmacéutica o cosmética estándar (por ejemplo, véase "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª edición, 1995, Ed. Alfonso Gennaro, Mack Publishing Company, Pensilvania, EE. UU.).

Se incluye como "farmacéuticamente aceptable" que la formulación sea estéril y libre de pirógenos. Los vehículos farmacéuticos adecuados son bien conocidos en la técnica de la farmacia. El vehículo o vehículos deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con el compuesto de la descripción y no nocivos para los receptores de los mismos. Típicamente, los vehículos serán agua o solución salina que serán estériles y libres de pirógenos; sin embargo, pueden usarse otros vehículos aceptables. Por tanto, "vehículo farmacéuticamente aceptable" y "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluyen cualquier compuesto o compuestos usados en la formación de una parte de la formulación que pretende que actúe meramente como vehículo, concretamente, que no se pretende que tenga actividad biológica por sí misma. El vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable es generalmente seguro, no tóxico y no indeseable biológicamente ni de otro modo. Un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable como se usa en la presente memoria incluye tanto uno como más de uno de dichos vehículos o excipientes.

Igualmente, el término "cosméticamente aceptable" se usa para designar formulaciones adecuadas para uso como productos cosméticos. Los vehículos cosméticos adecuados son bien conocidos en la materia, tales como aquellos usados comúnmente en champús, lociones, cremas y otros de dichos productos.

El excipiente puede ser uno o más de carbohidratos, polímeros, lípidos y minerales. Los ejemplos de carbohidratos incluyen lactosa, sacarosa, manitol y ciclodextrinas, que se añaden a la composición, p. ej., para facilitar la liofilización. Son ejemplos de polímeros almidón, éteres de celulosa, celulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, etilhidroxietilcelulosa, alginatos, carragenanos, ácido hialurónico y derivados del mismo, poli(ácido acrílico), polisulfonato, polietilenglicol/poli(óxido de etileno), copolímeros de poli(óxido de etileno)/poli(óxido de propileno) polivinilalcohol/poli(acetato de vinilo) de diferentes grados de hidrólisis y polivinilpirrolidona, todos de diferente peso molecular, que se añaden a la composición, p. ej., para control de la viscosidad, para conseguir bioadhesión o para proteger al lípido de la degradación química y proteolítica. Son ejemplos de lípidos ácidos grasos, fosfolípidos, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, ceramidas, esfingolípidos y glicolípidos, todos de diferente longitud de cadena de acilo y saturación, lecitina de huevo, lecitina de soja, lecitina de huevo y soja hidrogenada, que se añaden a la composición por razones similares a las de los polímeros. Son ejemplos de minerales talco, óxido de magnesio, óxido de cinc y óxido de titanio, que se añaden a la composición para obtener beneficios tales como reducción de la acumulación de líquido o propiedades de pigmento ventajosas.

El término "diluyente" se pretende que signifique una solución acuosa o no acuosa con el fin de diluir el péptido en la

preparación farmacéutica. El diluyente puede ser uno o más de solución salina, agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol o aceites (tales como aceite de cártamo, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón o aceite de sésamo).

- 5 El diluyente puede funcionar también como tampón. El término “tampón” pretende significar una solución acuosa que contiene una mezcla de ácido-base con el fin de estabilizar el pH. Son ejemplos de tampones Trizma, bicina, tricina, MOPS, MOPSO, MOBS, Tris, Hepes, HEPBS, MES, fosfato, carbonato, acetato, citrato, glicolato, lactato, borato, ACES, ADA, tartrato, AMP, AMPD, AMPSO, BES, CABS, cacodilato, CHES, DIPSO, EPPS, etanolamina, glicina, HEPPSO, imidazol, ácido imidazoláctico, PIPES, SSC, SSPE, POPSO, TAPS, TABS, TAPSO y TES.

- 10 Opcionalmente, la composición puede comprender un coadyuvante. El término “coadyuvante” pretende significar cualquier compuesto añadido a la formulación para aumentar el efecto biológico del péptido. El coadyuvante puede ser uno o más de sales de cinc, cobre o plata con diferentes aniones, por ejemplo pero sin limitación, fluoruro, cloruro, bromuro, yoduro, tiocianato, sulfito, hidróxido, fosfato, carbonato, lactato, glicolato, citrato, borato, tartrato y acetatos de diferente composición de acilo.

- 15 Las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden estar también en forma de microesferas biodegradables. Se han usado ampliamente poliésteres alifáticos tales como poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), copolímeros de PLA y PGA (PLGA) o policaprolactona (PCL) y polianhídridos como polímeros biodegradables en la producción de microesferas. Las preparaciones de dichas microesferas pueden encontrarse en los documentos US 5.851.451 y en EP0213303.

- 20 Las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden estar también en forma de geles poliméricos, con polímeros tales como almidón, éteres de celulosa, celulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, etilhidroxietilcelulosa, alginatos, carragenanos, ácido hialurónico y derivados del mismo, poli(ácido acrílico) y polisulfonato.

- 30 Los polipéptidos de osteopontina modificados pueden formularse a diversas concentraciones, dependiendo de la eficacia/toxicidad del polipéptido particular que se esté usando. Preferiblemente, la composición comprende el polipéptido de osteopontina modificado a una concentración de entre 1 nM y 1 M, por ejemplo entre 0,1 μ M y 1 mM, 1 μ M y 100 μ M, entre 5 μ M y 50 μ M, entre 10 μ M y 50 μ M, entre 20 μ M y 40 μ M y opcionalmente de aproximadamente 30 μ M. Para aplicaciones *ex vivo* e *in vitro*, las composiciones pueden comprender una concentración menor de polipéptido de osteopontina modificado, por ejemplo entre 0,0025 μ M y 1 μ M.

- 35 Se apreciará por los especialistas en la materia que las composiciones de la descripción pueden administrarse por una variedad de vías, por ejemplo administración tópica, transdérmica, parenteral u oral.

- 40 Ventajosamente, las composiciones de la descripción son adecuadas para administración tópica o administración intracutánea.

- Por tanto, las composiciones de la descripción pueden administrarse por vía tópica a la piel (p. ej. cuero cabelludo). Por ejemplo, la composición puede proporcionarse en forma de una pomada que contiene el polipéptido activo suspendido o disuelto, por ejemplo, en una mezcla con uno o más de los siguientes: aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, compuestos de polioxietileno-polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Como alternativa, el polipéptido puede formularse como una loción o crema adecuada, suspendida o disuelta, por ejemplo, en una mezcla de uno o más de los siguientes: aceite mineral, monoestearato de sorbitán, un polietilenglicol, parafina líquida, polisorbato 60, cera de ésteres de cetilo, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

- 50 Opcionalmente, la composición para administración tópica puede comprender un mejorador de la penetración (por ejemplo, como se describe en Osborne y Henke, 1997, *Pharmaceutical Technology*, noviembre: 58-82 y Pathan y Setty, 2009, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 8 (2): 173-179).

- Como alternativa, las composiciones de la descripción pueden administrarse por vía parenteral, por ejemplo intracutánea. Dichas composiciones se usan mejor en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo suficientes sales o glucosa para hacer la solución isotónica con la sangre. Las soluciones acuosas deberían estar adecuadamente tamponadas (preferiblemente a un pH de 3 a 9), si es necesario. La preparación de formulaciones parenterales adecuadas en condiciones estériles se logra fácilmente mediante técnicas farmacéuticas estándares bien conocidas por los especialistas en la materia.

Las composiciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en envases de una dosis o múltiples dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en condición liofilizada que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones de inyección extemporánea a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles de la clase descrita anteriormente.

- 10 Puede ser beneficioso usar un sistema de liberación prolongada, tal como formulaciones de microesferas, para suministrar los polipéptidos de osteopontina modificados.

Como alternativa, las composiciones pueden administrarse mediante un dispositivo implantado quirúrgicamente que libera el polipéptido activo directamente en el sitio requerido (concretamente la epidermis).

- 15 Las composiciones de la descripción pueden suministrarse también por metodologías transdérmicas.

Por ejemplo, pueden emplearse terapia de electroporación (EPT) y/o sistemas de iontoforesis para la administración de proteínas y polipéptidos. En dichos procedimientos, se usa un dispositivo para suministrar un campo eléctrico pulsante a células, dando como resultado una permeabilidad aumentada de las membranas celulares al fármaco y una mejora significativa del suministro intracelular de fármaco.

- 20 Un procedimiento transdérmico alternativo, la electroincorporación, que utiliza partículas pequeñas de hasta 30 micrómetros de diámetro sobre la superficie de la piel, experimenta pulsos eléctricos idénticos o similares a los usados en electroporación. Las partículas se impulsan a través del estrato córneo a las capas más profundas de la piel. Las partículas pueden estar cargadas o recubiertas con fármacos o genes o pueden actuar simplemente como "balas" que generan poros en la piel a través de los cuales pueden entrar fármacos

- 30 Se han desarrollado también metodologías transdérmicas adicionales por PowderJect Pharmaceuticals (poseída ahora por Novartis AG).

Los procedimientos adecuados para administración de los polipéptidos y composiciones de la descripción son bien conocidos en la materia, por ejemplo, véase "Therapeutic Protein and Peptide Formulation and Delivery", Zahra Shahrokh y col. (Eds), 1997, American Chemical Society, ISBN13: 9780841235281.

- 35 Un segundo aspecto de la presente descripción proporciona un polipéptido que consiste en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 63 o un fragmento, variante, derivado o fusión del mismo (o una fusión de dicho fragmento, variante o derivado) que retiene una actividad estimuladora del crecimiento del cabello de la secuencia aminoacídica de SEC ID NO: 63.

- 40 En una realización de la presente descripción, el polipéptido está aislado (p. ej., fuera del cuerpo del mamífero).

Los términos "fragmento", "variante", "derivado" o "fusión" son como se definieron anteriormente en relación con el primer aspecto de la presente descripción.

- 45 En un aspecto relacionado de la presente descripción, el polipéptido es un fragmento de osteopontina humana que comprende un dominio RGD que está inactivado (mediante sustitución o eliminación de uno o más de los aminoácidos del dominio RGD y/o mediante la adición de uno o más aminoácidos dentro del dominio RGD). Por ejemplo, los tres aminoácidos del dominio "R-G-D" de la proteína de osteopontina humana de tipo salvaje pueden reemplazarse por dos aminoácidos, "D-I". Preferiblemente, el fragmento tiene entre cinco y treinta aminoácidos de longitud, por ejemplo entre diez y veinte aminoácidos de longitud.

Por ejemplo, el polipéptido puede comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de la SEC ID NO: 63 a la 120, o un fragmento, variante, derivado o fusión de los mismos.

- 55 Péptidos de 15 aminoácidos preferidos:

VDTYDGDISVVYGLR
VDTYDGDISVVYGLS

["FOL-005"]

SEQ ID NO: 63

SEQ ID NO: 64

Péptidos de 14 aminoácidos preferidos:

VDTYDGDISVVYGL
DTYDGDISVVYGLR
TYDGDISVVYGLRS

SEQ ID NO: 65

SEQ ID NO: 66

SEQ ID NO: 67

5 Péptidos de 13 aminoácidos preferidos:

VDTYDGDISVVYG
DTYDGDISVVYGL
TYDGDISVVYGLR
YDGDISVVYGLRS

SEQ ID NO: 68

SEQ ID NO: 69

SEQ ID NO: 70

SEQ ID NO: 71

Péptidos de 12 aminoácidos preferidos:

VDTYDGDISVVY
DTYDGDISVVYG
TYDGDISVVYGL
YDGDISVVYGLR
DGDISVVYGLRS

SEQ ID NO: 72

SEQ ID NO: 73

SEQ ID NO: 74

SEQ ID NO: 75

SEQ ID NO: 76

10

Péptidos de 11 aminoácidos preferidos:

VDTYDGDISVV
DTYDGDISVVY
TYDGDISVVYG
YDGDISVVYGL
DGDISVVYGLR
GDISVVYGLRS

SEQ ID NO: 77

SEQ ID NO: 78

SEQ ID NO: 79

SEQ ID NO: 80

SEQ ID NO: 81

SEQ ID NO: 82

Péptidos de 10 aminoácidos preferidos:

VDTYDGDISV
DTYDGDISVV
TYDGDISVVY
YDGDISVVYG
DGDISVVYGL
GDISVVYGLR
ISVVYGLRS

SEQ ID NO: 83

SEQ ID NO: 84

SEQ ID NO: 85

SEQ ID NO: 86

SEQ ID NO: 87

SEQ ID NO: 88

SEQ ID NO: 89

Péptidos de 9 aminoácidos preferidos:

VDTYDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 90
DTYDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 91
TYDGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 92
YDGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 93
DGD <u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 94
G <u>DISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 95
<u>DISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 96
<u>ISVVYGLRS</u>	SEQ ID NO: 97

Péptidos de 8 aminoácidos preferidos:

VDTYDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 98
DTYDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 99
TYDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 100
YDGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 101
DGD <u>ISVVY</u>	SEQ ID NO: 102
G <u>DISVVYG</u>	SEQ ID NO: 103
<u>DISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 104
<u>ISVVYGLR</u>	SEQ ID NO: 105

Péptidos de 7 aminoácidos preferidos:

5

VDTYDGD <u>D</u>	SEQ ID NO: 106
DTYDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 107
TYDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 108
YDGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 109
DGD <u>ISVV</u>	SEQ ID NO: 110
G <u>DISVVY</u>	SEQ ID NO: 111
<u>DISVVYG</u>	SEQ ID NO: 112
<u>ISVVYGL</u>	SEQ ID NO: 113

Péptidos de 6 aminoácidos preferidos:

DTYDGD <u>D</u>	SEQ ID NO: 114
TYDGD <u>I</u>	SEQ ID NO: 115
YDGD <u>IS</u>	SEQ ID NO: 116
DGD <u>ISV</u>	SEQ ID NO: 117
G <u>DISVV</u>	SEQ ID NO: 118
<u>DISVVY</u>	SEQ ID NO: 119
<u>ISVVYG</u>	SEQ ID NO: 120

- 10 En una realización preferida de la presente divulgación, el polipéptido comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 63.

Los polipéptidos de la divulgación pueden ser para uso médico en el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección asociada con la pérdida del cabello (como se describe con detalle a continuación).

La descripción también proporciona el uso de un polipéptido de la descripción para estimular el crecimiento capilar en un mamífero, en la que el uso es cosmético o comercial (como se describe con detalle a continuación)

Un tercer aspecto de la presente descripción proporciona composiciones según el primer aspecto de la presente descripción para uso en la estimulación del crecimiento capilar en un mamífero.

10 Por tanto, las composiciones pueden ser para uso en la estimulación de folículos pilosos existentes y/o la inducción del crecimiento de nuevos folículos pilosos (o de células madre para producir los mismos).

En una realización de la presente descripción, la composición es para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección asociada a la pérdida del cabello, tal como alopecia.

15 La alopecia está típicamente asociada a la pérdida de cabello anagénico. Sin embargo, se apreciará que las composiciones de la descripción pueden usarse también para el tratamiento de afecciones asociada a la pérdida de cabello telogénico.

20 En una realización de la presente descripción, la alopecia se selecciona del grupo consistente en:

- a) alopecia androgénica (también conocida como alopecia androgenética, calvicie de patrón masculino o calvicie de patrón femenino);
- b) alopecia de tracción;
- 25 c) efluvio anagénico;
- d) efluvio telogénico;
- e) alopecia areata;
- f) alopecia total;
- g) alopecia universal;
- 30 h) alopecia de barba;
- i) alopecia mucinosa;
- j) alopecia neoplásica;
- k) alopecia cicatricial; y
- l) alopecia cicatrizante.

35 Por ejemplo, la alopecia puede ser alopecia androgénica.

Como alternativa, la alopecia puede ser efluvio anagénico. Esta afección, resultante de la entrada temprana de cabellos en la fase telogénica, puede ser debida a una variedad de causas, incluyendo trastornos alimentarios, fiebre, parto, dolencia crónica, cirugía mayor, anemia, trastornos emocionales graves, dietas de choque, hipotiroidismo y fármacos.

40 Por tanto, en una realización de la presente descripción, la pérdida del cabello es inducida por agentes de radioterapia y/o quimioterapia. Por ejemplo, la pérdida del cabello es un efecto secundario común e inquietante del tratamiento con fármacos quimioterapéuticos tales como cisplatino, etopósido y paclitaxel.

Convenientemente, el mamífero es un ser humano.

50 Un cuarto aspecto relacionado de la presente descripción proporciona el uso de un polipéptido de osteopontina modificado como se define anteriormente en relación con el primer aspecto de la presente descripción en la preparación de un medicamento para estimular el crecimiento capilar en un mamífero.

Por tanto, el medicamento puede ser para estimular folículos pilosos existentes y/o para inducir el crecimiento de nuevos folículos pilosos (o de células madre para producir los mismos).

55 En una realización de la presente descripción, el medicamento es para el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección asociada con la pérdida de cabello, tal como alopecia (por ejemplo, asociada con la pérdida de pelos anágenos).

En una realización de la presente descripción, la alopecia se selecciona del grupo que consiste en:

- (a) Alopecia androgénica (también conocida como alopecia androgenética, *alopecia androgenetica*, calvicie de patrón masculino o calvicie de patrón femenino);
- (b) alopecia de tracción;
- 5 (c) efluvio anágeno;
- (d) efluvio telógeno;
- (e) alopecia areata;
- (f) alopecia total;
- (g) alopecia universal;
- 10 (h) alopecia de barba;
- (i) Alopecia mucinosa;
- (j) alopecia neoplásica;
- (k) alopecia cicatricial; y
- (l) alopecia cicatrizante.

15

Por ejemplo, la alopecia puede ser alopecia androgénica.

Alternativamente, la alopecia puede ser anágena efluvio, p. ej., inducida por radioterapia y/o quimioterapia (ver lo anterior).

20

Convenientemente, el mamífero es un humano.

Un quinto aspecto relacionado de la presente divulgación proporciona un procedimiento para estimular el crecimiento capilar en un mamífero que comprende administrar una cantidad efectiva de un polipéptido de osteopontina modificado como se define anteriormente en relación con el primer aspecto de la presente descripción.

25

Por tanto, el procedimiento puede ser para estimular folículos pilosos existentes y/o inducir el crecimiento de nuevos folículos pilosos (o de células madre para producir los mismos).

- 30 La composición polipeptídica de la descripción se administra al paciente en una cantidad efectiva. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad efectiva" o "terapéuticamente efectiva", como se usa en la presente memoria, hace referencia a aquella cantidad que proporciona un efecto estimulante sobre el crecimiento capilar. Esta es una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado. Como se aprecia por los especialistas en la materia, la cantidad de compuesto puede variar dependiendo de su actividad específica.
- 35 Las cantidades de dosificación adecuadas pueden contener una cantidad predeterminada de composición activa calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente requerido. En los procedimientos y uso para la fabricación de composiciones de la descripción, se proporciona una cantidad terapéuticamente efectiva del componente activo. Una cantidad terapéuticamente efectiva puede determinarse por el trabajador médico o veterinario especialista basándose en las características del paciente, tales como edad, peso,
- 40 sexo, afección, complicaciones, otras enfermedades, etc., como es bien conocido en la materia.

En una realización de la presente descripción, el procedimiento es para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección asociada a la pérdida del cabello, tal como alopecia (p. ej., asociada a la pérdida de cabello anagénico).

45

En una realización de la presente descripción, la alopecia se selecciona del grupo que consiste en:

- (a) alopecia androgénica (también conocida como alopecia androgenética, *alopecia androgenetica*, calvicie de patrón masculino o calvicie de patrón femenino);
- (b) alopecia de tracción;
- 50 (c) efluvio anágeno;
- (d) efluvio telógeno;
- (e) alopecia areata;
- (f) alopecia total;
- (g) alopecia universal;
- (h) alopecia de barba;
- 55 (i) Alopecia mucinosa;
- (j) alopecia neoplásica;
- (k) alopecia cicatricial; y
- (l) alopecia cicatrizante.

Por ejemplo, la alopecia puede ser alopecia androgénica.

Alternativamente, la alopecia puede ser efluvio anágeno, p. ej., inducido por radioterapia y/o quimioterapia (ver 5 arriba).

Convenientemente, el mamífero es un humano.

Se apreciará por los especialistas en la materia que la composición del primer aspecto de la presente descripción no 10 está limitada a usos médicos, sino que puede usarse también como agentes cosméticos (en el sentido de que no proporcionan una mejora de la salud física como tal, sino que meramente proporcionan un beneficio estético al mamífero).

Por lo tanto, un aspecto de la presente descripción proporciona el uso de una composición según el primer aspecto 15 de la descripción para estimular el crecimiento capilar en un mamífero, en el que el uso es cosmético.

Por tanto, la composición cosmética puede ser para estimular folículos pilosos existentes y/o inducir el crecimiento de nuevos folículos pilosos (o de células madre para producir los mismos).

20 En una realización de la presente descripción, la composición cosmética se usa para el tratamiento o la prevención de calvicie, que puede estar asociada a entradas y/o cabello escaso.

Dichas composiciones no están limitadas al uso en el cuero cabelludo, sino que pueden aplicarse a otro lugar del 25 cuerpo (incluyendo la cara para fomentar el crecimiento de barba, pestañas, cejas, etc.).

Convenientemente, el mamífero es un ser humano.

Se apreciará por los especialistas en la materia que las composiciones de la descripción pueden usarse por sí solas o en combinación con otros agentes terapéuticos o cosméticos. Por ejemplo, las composiciones de la descripción 30 pueden usarse en una terapia de combinación con tratamientos existentes para prevenir la pérdida del cabello existente y/o para estimular el crecimiento de cabello nuevo, por ejemplo abridores de canal de potasio tales como minoxidil (Regaine RTM., Pharmacia Corp.) y diazóxido; inhibidores de 5-alfa-reductasa tales como finasterida (Propecia RTM., Merck & Co.) y el inmunosupresor ciclosporina A.

35 Se apreciará además por los especialistas en la materia que las composiciones de la descripción pueden usarse *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*.

Por tanto, además de aplicarse o administrarse directamente a un mamífero, las composiciones pueden usarse para 40 estimular el crecimiento capilar *ex vivo*, por ejemplo en un explante de piel antes de injertar la piel en el mamífero.

Como alternativa, las composiciones pueden usarse para hacer crecer folículos pilosos *in vitro*, p. ej. en cultivo celular, que puede trasplantarse entonces a un paciente.

Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente descripción proporciona el uso de un polipéptido según el primer 45 aspecto de la presente descripción para estimular el crecimiento capilar *in vitro* o *ex vivo*.

En una realización de la presente descripción, el polipéptido se usa para estimular el crecimiento de folículos pilosos (o de células madre precursoras de los mismos). según

50 Se describirán ahora los ejemplos preferidos no limitantes que representan ciertos aspectos de la presente descripción, con referencia a las siguientes figuras:

La figura 1 muestra una representación esquemática del área de muestreo de la piel de ratones.

55 La figura 2 es una fotografía representativa de una sección transversal de piel de un ratón 48 horas después de tratarse con un polipéptido de osteopontina modificado. Los folículos en la epidermis se indican por una flecha. La densidad lineal de los folículos era de 18,3 folículos por mm (598 folículos en 32,65 mm de epidermis).

La figura 3 es una fotografía representativa de una sección transversal de piel de un ratón 48 horas después de

tratarse con una composición de control negativo. Los folículos en la epidermis se indican por una flecha. La densidad lineal de los folículos era de 11,7 folículos por mm (379 folículos en 32,50 mm de epidermis).

La figura 4 muestra fotografías representativas de (a) un animal tratado con control el día 14 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 0, (b) un animal tratado con el polipéptido "Cx" "completo" ejemplar (correspondiente a la SEQ ID NO: 1, pero sin el péptido señal de 16 aminoácidos inicial, 60 nM) el día 14 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 1,5, (c) un animal tratado con el péptido corto ejemplar "FOL-004" (SEQ ID NO: 5, 60 nM) el día 5 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 2,5 y (d) un animal tratado con el péptido corto ejemplar "FOL-005" (SEQ ID NO: 5, 63 nM) el día 5 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 2,0.

La figura 5 muestra el efecto del polipéptido "Cx" "completo" ejemplar y los polipéptidos de SEQ ID NO: 5 y 63 de la descripción sobre el crecimiento capilar.

La figura 6 muestra el efecto del polipéptido ejemplar de SEQ ID NO: 5 sobre el crecimiento capilar, en comparación con el correspondiente polipéptido de SEQ ID NO: 121 de osteopontina de ratón de tipo silvestre.

EJEMPLO A - Estudio *in vivo* del efecto de crecimiento capilar de osteopontina de ratón mutada en ratones

Materiales y procedimientos

Creación y producción del polipéptido de ensayo

Se clonó la secuencia del polipéptido de osteopontina modificado de SEQ ID. NO:1 en un vector de expresión pCEP4 mediante el uso de sitios de enzimas de restricción *XhoI* y *BamHI*. El vector de expresión pCEP4 contiene un gen de resistencia a ampicilina para expresión en bacterias y un gen de resistencia a higromicina para expresión en células EBNA eucarióticas. Se transformaron los vectores que contienen polipéptido en células bacterianas XL-10 competentes, se multiplicaron y se aislaron con el kit Qiagen midi prep. Se transfectaron entonces vectores aislados en células EBNA humanas mediante el uso del reactivo de transfección Eugene según el protocolo de fabricación (Invitrogen).

Aislamiento del polipéptido de ensayo

Se recogieron los medios del cultivo celular de EBNA que contienen el polipéptido producido después de 3 a 4 días de cultivo. Los polipéptidos producidos por el plásmido pCEP4 contienen un marcaje de His insertado, que se usa para facilitar el aislamiento con cromatografía en gel de Ni-Sepharose (Invitrogen). Se diluyó el medio recogido con tampón de unión (fosfato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 500 mM, pH 7,8) y se añadió suspensión de Ni-Sepharose antes de la incubación en agitador durante una noche a 4 °C. Se sedimentó el gel de Ni-Sepharose mediante centrifugación a 1000 g durante 7 minutos y se vertió en una minicolumna desechable BioRad. Se retiraron las proteínas no unidas con tampón de unión seguido de tampón de lavado (fosfato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 500 mM, pH 6,0). Se eluyeron los polipéptidos de la columna con imidazol 500 mM.

Diseño de estudio general

El estudio consistía en cuatro grupos experimentales que contenían cada uno 5 ratones wtC57BL/6N machos.

El día 1, se afeitaron cuidadosamente los cuellos de todos los ratones participantes en cuadrados de aproximadamente 1,5 x 1,0 cm y se retiraron los pelillos pequeños restantes. El día siguiente (día 0), cada animal recibió cuatro inyecciones subcutáneas de 25 µl cada una en localizaciones separadas (cada una de aprox. 0,5 x 0,5 cm) en el rectángulo afeitado (véase la figura 1).

Cada animal recibió dos inyecciones de 25 µl de una composición que comprende un polipéptido de osteopontina modificado ejemplar de SEQ ID NO:1 ("polipéptido de ensayo" o "Cx", 60 nmol/l en PBS) y dos inyecciones de control negativo de 25 µl de PBS (según el esquema trazado en la tabla 1).

Tabla 1: Diseño de estudio

Grupo		Aplicación intracutánea		Número de animales
		Volumen	Tiempo programado después de la aplicación	
1	Polipéptido de ensayo + PBS	25 µl	Necropsia después de 24 h (día 1)	5
2	Polipéptido de ensayo + PBS	25 µl	Necropsia después de 48 h (día 2)	5

3	Polipéptido de ensayo + PBS	25 µl	Necropsia después de 96 h (día 4)	5
4	Polipéptido de ensayo + PBS	25 µl	Necropsia después de 336 h (día 14)	5
Los animales de los grupos de tratamiento 1 a 4 se sacrificaron 24 h (grupo 1), 48 h (grupo 2), 96 h (grupo 3) y 336 h (14 días, grupo 4) después de la aplicación del compuesto, respectivamente.				

En todos los casos, se retiraron las zonas de piel marcadas en el cuello y se procesaron como sigue: se fijaron con paraformaldehído al 4 % una de las muestras de piel tratadas con polipéptido y una de las muestras de piel de control tratadas con PBS y posteriormente se embebieron en parafina. Se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido las otras dos muestras de piel (tratada con polipéptido y tratada con PBS) y se almacenaron apropiadamente a -80 °C.

Se efectuó una tinción con hematoxilina de las secciones embebidas en parafina.

10

Animales
 Razón Sistema de ensayo aceptado para el fin del estudio
 Cepa wtC57BU6N macho
 Fuente Charles River GmbH
 Sandhofer Weg 7
 D 97633 Sulzfeld
 Número total de animales 20
 Edad de suministro 5-6 semanas
 Peso corporal e intervalo (en aclimatación) Aprox. 30 g
 Identificación Marcado por crotal
 Aclimatación Del 17 de febrero al 1 de marzo de 2011

Cría
 Condiciones Condiciones higiénicas óptimas, aire acondicionado con 10-15 cambios de aire por hora y entorno monitorizado continuamente con intervalos diurnos de temperatura de 22 ± 3 °C y de humedad relativa de 30-70 %, 12 horas de luz fluorescente artificial/12 horas de oscuridad
 Alojamiento Máximo de 3 animales por jaula
 Dieta M-Zucht
 ssniff Spezialdiäten GmbH
 Ferdinand Gabriel Weg 16
 D-59494 Soest
 Agua Agua del grifo comunitaria (sometida a autoclave)

Polipéptido de ensayo

Identificación Polipéptido de osteopontina modificado de SEQ ID NO: 1
 Condiciones de almacenamiento Almacenado en tampón Hepes a 4 °C
 Precauciones de seguridad Evitar la ingestión e inhalación, vestir guantes y máscara facial, lavar con jabón y agua después de contacto cutáneo, sin precauciones especiales
 Preparación de muestra Se diluyó 15x la solución madre suministrada con PBS, obteniendo la solución de trabajo 60 nM antes de la inyección

15

Vehículo
 Identidad PBS a pH 7,4

Tratamiento
 Vía de administración Intracutánea
 Frecuencia de administración Aplicación única el día 0
 Volumen de dosis 25 µl

20

Observaciones

Se registraron los siguientes parámetros:

Viabilidad/mortalidad	Diariamente
Signos clínicos	Diariamente

Protocolo de tinción con hematoxilina de secciones embebidas con parafina del grupo 1

- 5
1. Baño de xileno de 5 min
2. Baño de xileno de 5 min
3. Baño de EtOH al 100 % de 5 min
4. Baño de EtOH al 95 % de 5 min
- 10 5. Baño de EtOH al 70 % de 5 min
6. Baño de PBS de 5min
7. Baño de hematoxilina de aproximadamente 20 s (hematoxilina Harrys)^{a),b)}
8. Baño de agua 3 veces de 3 min
9. Baño de EtOH al 70 % de 5 min
- 15 10. Baño de EtOH al 95 % de 5min
11. Baño de EtOH al 100 % de 5 min
12. Baño de xileno de 5 min
13. Baño de xileno de 5 min
14. Se monta el portaobjetos usando Permount y cubreobjetos.
- 20
- a) el tiempo depende del tipo de hematoxilina usado, de 20 s a 10 min (que puede determinarse mediante el uso de portaobjetos de ensayo)
- b) filtrado antes del uso

25 Resultados

Se resume en la tabla 1 (a) y (b) siguiente el efecto del tratamiento con un polipéptido de osteopontina modificado (SEQ ID NO:1) sobre la densidad de folículos pilosos.

30 Tabla 1(a) – Animales tratados con polipéptido

Portaobjetos 1 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	18	0,90
Área a2	21	0,90
Área a3	25	0,95
Área b1	13	0,90
Área b2	21	0,90
Área b3	26	0,95
Suma	124	5,50
Portaobjetos 2 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	16	0,90
Área a2	18	0,90
Área a3	25	0,95
Área b1	14	0,90
Área b2	18	0,90
Área b3	19	0,95
Suma	110	5,50
Portaobjetos 3 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	18	0,90
Área a2	13	0,90
Área a3	19	0,95
Área b1	20	0,90
Área b2	17	0,90
Área b3	14	0,90
Suma	101	5,45

Tabla 1(a) (continuación)

Portaobjetos 4 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	18	0,90
Área a2	17	0,90
Área a3	15	0,90
Área b1	18	0,90
Área b2	17	0,90
Área b3	13	0,90
Suma	98	5,40
Portaobjetos 5 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	13	0,90
Área a2	10	0,90
Área a3	21	0,90
Área b1	12	0,90
Área b2	10	0,90
Área b3	16	0,90
Suma	82	5,40
Portaobjetos 6 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	18	0,90
Área a2	10	0,90
Área a3	10	0,90
Área b1	18	0,90
Área b2	17	0,90
Área b3	10	0,90
Suma	83	5,40
Portaobjetos 7 tratado con polipéptido	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Portaobjetos 34	124	5,50
Portaobjetos 38	110	5,50
Portaobjetos 42	101	5,45
Portaobjetos 46	98	5,40
Portaobjetos 50	82	5,40
Portaobjetos 54	83	5,40
Total	598	32,65

Tabla 1(b) – Animales tratados con control

Portaobjetos 1 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	9	0,90
Área a2	17	0,90
Área a3	7	0,90
Área b1	11	0,90
Área b2	14	0,95
Área b3	10	0,90
Suma	68	5,45
Portaobjetos 2 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	12	0,90
Área a2	17	0,90
Área a3	7	0,90
Área b1	12	0,90
Área b2	13	0,90
Área b3	10	0,90
Suma	71	5,40

Tabla 1(b) (continuación)

Portaobjetos 3 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	8	0,90
Área a2	7	0,90
Área a3	11	0,90
Área b1	19	0,95
Área b2	8	0,90
Área b3	14	0,90
Suma	67	5,45
Portaobjetos 4 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	21	0,90
Área a2	5	0,90
Área a3	2	0,90
Área b1	16	0,90
Área b2	11	0,90
Área b3	3	0,90
Suma	58	5,40
Portaobjetos 5 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	13	0,90
Área a2	2	0,90
Área a3	9	0,90
Área b1	12	0,90
Área b2	7	0,90
Área b3	15	0,90
Suma	58	5,40
Portaobjetos 6 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Área a1	7	0,90
Área a2	11	0,90
Área a3	10	0,90
Área b1	6	0,90
Área b2	8	0,90
Área b3	15	0,90
Suma	57	5,40
Portaobjetos 7 tratado con control	Número de folículos pilosos	Longitud de epidermis, mm
Portaobjetos 18	68	5,45
Portaobjetos 22	71	5,40
Portaobjetos 26	67	5,45
Portaobjetos 34	58	5,40
Portaobjetos 38	58	5,40
Portaobjetos 42	57	5,40
Total	379	32,50

Se muestra a continuación en la tabla 2 un resumen de los resultados.

Tabla 2

	Nº de folículos analizados	Nº de folículos por mm
Tratamiento con SEQ ID NO: 1	356	18,3
Grupo de control	356	11,7

Se muestran en las figuras 2 y 3 secciones de tejido representativas que muestran folículos en animales tratados y de control.

5

En comparación, se observó que la osteopontina de ratón de tipo silvestre no tiene efecto detectable sobre el crecimiento capilar (datos no mostrados).

Conclusiones

10

Los datos muestran que el tratamiento con el polipéptido de osteopontina modificado ejemplar de SEQ ID NO: 1 aumenta el número de folículos/mm de epidermis en aproximadamente un 60 %.

Estos hallazgos confirman la utilidad de los polipéptidos de tipo osteopontina de la descripción en la estimulación del crecimiento capilar.

15

EJEMPLO B - Estudio *in vivo* del efecto de crecimiento capilar de las SEQ ID NO: 5 y 63 en ratones

Materiales y procedimientos

20

Animales

Se usaron ratones (C57BU6) de una edad de 6 a 8 semanas.

25 Visión general del diseño de estudio

- Selección de animales en la fase telogénica del crecimiento capilar
- Pinzamiento del lomo dorsal de los animales
- Inyección subcutánea de péptido de ensayo/vehículo
- 30 • Análisis visual: porcentaje de inducción anagénica; puntuación del crecimiento capilar medio; melanogénesis visual
- Análisis histológico: recuento de folículos subcutáneos, morfometría para el grosor cutáneo.

Grupos de tratamiento

35

- Se asignaron aleatoriamente los animales a los grupos de tratamiento (véase la tabla 3)

Tabla 3

Tratamiento	Nº de animales	Dosis	Volumen
"Cx"	5	60 nm	25 µl
"FOL-004" (SEQ ID NO: 5)	5	60 nm	25 µl
"FOL-005" (SEQ ID NO: 63)	5	60 nm	25 µl
Control de vehículo	5	-	25 µl

40

- Se administró a los animales el tratamiento especificado los días 1, 5 y 9
- Se administró el tratamiento mediante inyección subcutánea en piel dorsal pinzada

Criterios de puntuación

45

- Se observó el efecto de los tratamientos y se puntuó diariamente según los criterios de la tabla 4.

Tabla 4

Observación de la piel dorsal	Puntuación de crecimiento capilar
Sin crecimiento capilar, piel rosa	0
Cambios del color de la piel, de rosa a gris sin crecimiento capilar visible	0,5
Cambios de color de la piel, de rosa a gris o negro sin crecimiento capilar visible, indicando el inicio de la anagenia	1
Crecimiento capilar disperso	1,5
Crecimiento capilar corto difuso	2
Crecimiento capilar moderado	2,5
Pelo de recubrimiento normal denso	3

Resultados

5 Se muestra en la tabla 5 el efecto de los polipéptidos ejemplares de la descripción sobre el crecimiento capilar.

Tabla 5

Animal	Día											
	1	2	5	6	7	8	9	12	13	14	15	16
(A) Vehículo (control)												
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA
5	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	NA	NA
Media	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,2	-	-
(B) "Cx" (SEQ ID NO: 1 menos el péptido señal inicial de 16 aminoácidos)												
1	0	0	0	1	1,5	2	2,5	3	3	3	NA	NA
2	0	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	NA	NA
3	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1,5	1,5	1,5	NA	NA
4	0	0	0	0,5	0,5	0,5	1	1,5	1,5	1,5	NA	NA
5	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1,5	2	NA	NA
Media	0,0	0,0	0,0	0,5	0,6	0,7	1,1	1,6	1,7	1,8	-	-
(C) FOL-004 (SEQ ID NO: 5)												
1	0	0	0,5	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5	2,5	3
2	0	0	2,5	2,5	3	3	3	3	3	3	3	3
3	0	0	2,5	2,5	2,5	3	3	3	3	3	3	3
4	0	0	1,5	2,5	3	3	3	3	3	3	3	3
5	0	0	1,5	2	2,5	2,5	3	3	3	3	3	3
Media	0,0	0,0	1,7	2,1	2,4	2,5	2,6	2,7	2,7	2,7	2,9	3,0
(D) FOL-005 (SEQ ID NO: 63)												
1	0	0	2	2,5	3	3	3	3	3	3	3	3
2	0	0	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
3	0	0	0,5	0,5	1	1	1,5	2,5	2,5	2,5	3	3
4	0	0	2	2,5	2,5	3	3	3	3	3	3	3
5	0	0	0	0	0	0,5	1	2	2,5	2,5	3	3
Media	0,0	0,0	1,3	1,7	1,9	2,1	2,3	2,7	2,8	2,8	3,0	3,0

La figura 4 muestra fotografías representativas de (a) un animal tratado con control el día 14 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 0, (b) un animal tratado con el polipéptido "Cx" "completo" ejemplar (SEQ ID NO: 1, 60 nM) el día 14 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 1,5, (c) un animal tratado con el péptido corto ejemplar "FOL-004" (SEQ ID NO: 5, 60 nM) el día 5 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 2,5 y (d) un animal tratado con el péptido corto ejemplar "FOL-005" (SEQ ID NO: 5, 63 nM) el día 5 que tiene una puntuación de crecimiento capilar de 2,0.

Se resumen los resultados en la figura 5.

Los polipéptidos ejemplares FOL-004 (SEQ ID NO: 5) y FOL-005 (SEQ ID NO: 63) inducían ambos un crecimiento capilar rápido, que era evidente a partir del día 5 y se mantenía hasta el final del periodo de valoración (día 16).

Un polipéptido "completo" de la descripción ("Cx") inducía también un crecimiento capilar pronunciado, pero con un inicio más lento que FOL-004 (SEQ ID NO: 5) o FOL-005 (SEQ ID NO: 63).

Los animales tratados con control de vehículo mostraban poca señal de crecimiento capilar durante el periodo del experimento.

10 Ninguno de los polipéptidos ensayados conduce a ningún efecto adverso en los animales (sin pérdida de peso corporal ni ningún otro síntoma adverso discernible).

Conclusiones

15 Todos los polipéptidos de osteopontina mutados ensayados mostraban efectos de crecimiento capilar pronunciados *in vivo*, exhibiendo los polipéptidos ejemplares más cortos FOL-004 (SEQ ID NO: 5) y FOL-005 (SEQ ID NO: 63) un inicio de acción particularmente rápido.

20 **EJEMPLO C – Estudio *in vivo* del efecto de crecimiento capilar en ratones del fragmento de osteopontina de tipo silvestre equivalente a la SEQ ID NO: 5**

Materiales y procedimientos

25 Los animales, como se describen anteriormente en el Ejemplo B, se trataron como se describe en la tabla 6:

Tabla 6

Tratamiento	Nº de animales	Dosis	Volumen
"FOL-001"* (=SEQ ID NO: 121)	6	60 nM	25 µl

*"FOL-001" consiste en la siguiente secuencia aminoacídica:
VDVPNGRGDSLAYGLR [SEQ ID NO: 121]

30 Esta secuencia es un fragmento de osteopontina de ratón de tipo silvestre, y corresponde a la región de la proteína de la que deriva "FOL-004" (concretamente, "FOL-004" es una versión mutada del fragmento de tipo silvestre "FOL-001").

- Se administró a los animales el tratamiento especificado los días 1, 5 y 9
- Se administraron los tratamientos por inyección subcutánea en piel dorsal pinzada

35 Criterios de puntuación

- Se observó el efecto de los tratamientos y se puntuó como se describe en el Ejemplo B.

Resultados

40

Se muestra en la tabla 7 y la figura 6 el efecto del polipéptido "FOL-001" sobre el crecimiento capilar.

Tabla 7

Animal	Día											
	1	2	5	6	7	8	9	12	13	14	15	16
FOL-001 (SEQ ID NO 121, 60 nM)												
1	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5	1	2	2	2,5	2,5	NA
2	0	0	0,5	0,5	0,5	0,5	1	2	2	2,5	2,5	NA
3	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	NA
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NA
5	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	NA
6	0	0	0	0	0	0	0,5	1	1	1	1	NA
Media	0	0	0,17	0,17	0,17	0,17	0,58	1,17	1,17	1,33	1,33	-

El péptido FOL-001 (SEQ ID NO: 121) producía un efecto de crecimiento capilar retardado pero detectable en ratones, que se hizo evidente aproximadamente el día 9 y alcanzó una meseta a una puntuación de aproximadamente 1,3.

5

Conclusiones

En comparación con la secuencia peptídica mutada correspondiente de la descripción (FOL-004; SEQ ID NO: 5), la secuencia de tipo silvestre equivalente no mutada exhibía un inicio retardado de estimulación del crecimiento capilar con un efecto máximo de menos de un 50 % del observado con FOL-004.

10

Por tanto, el polipéptido ejemplar muestra mucha más eficacia que la secuencia de tipo silvestre no mutada equivalente.

15 EJEMPLO D –Estudio *in vivo* de la inducción anagénica en piel despellejada

Materiales y procedimientos

Los animales y tratamientos son como se describen anteriormente en el Ejemplo B.

20

Se sacrificaron todos los animales el día 16.

Observación de melanogénesis

25 Después de la terminación del término de valoración de crecimiento capilar para el Ejemplo B, se sacrificaron los animales, se despellejó la piel dorsal y se retiró para observación de la superficie interna.

Análisis histológico

30 Se prepararon secciones de piel despellejada para análisis histológico como se describe en el Ejemplo A. Se midieron entonces el recuento de folículos y el grosor cutáneo.

Resultados

35 Se resumen los resultados en las tablas 8 y 9 siguientes.

Tabla 8

<u>Observación de melanogénesis</u>					
Grupo	Color de piel (externa)	% de inducción anagénica*	Color negro en la piel despellejada (día 16)	% de inducción anagénica**	Nº de animales que muestra crecimiento capilar
Cx (60 nM)	Negro (5/5 animales)	100	3/5	60	5/5
FOL-004 (60 nM)	Negro (5/5 animales)	100	1/5	20	5/5
FOL-005 (60 nM)	Negro (5/5 animales)	100	3/5	60	5/5
Vehículo	Rosa (4/5 animales)	20	1/5	20	1/5

* con respecto al cambio de color de piel externa de rosa a negro

40 ** con respecto al color negro de la piel despellejada

Tabla 9a (todos los animales)

Grupo	Nº de animales considerados	Media $\pm$ EEM	
		Recuento de folículos subcutáneos (nº)	Grosor cutáneo
Cx (60 nM)	5	22,20 $\pm$ 10,69	308,8 $\pm$ 21,94
FOL-004 (60 nM)	5	6,20 $\pm$ 5,80	312,2 $\pm$ 15,60
FOL-005 (60 nM)	5	34,80 $\pm$ 14,58	348,80 $\pm$ 40,05
Vehículo	4*	0 $\pm$ 0	246,5 $\pm$ 8,35

* Se encontró que el animal nº 5 era un valor atípico significativo ($p < 0,05$, prueba de Grub) y se ignoró así en el análisis

Tabla 9b (animales solo en anagenia)

Grupo	Nº de animales considerados	Media $\pm$ EEM	
		Recuento de folículos subcutáneos (nº)	Grosor cutáneo
Cx (60 nM)	3/5	36,67 $\pm$ 10,69	308,8 $\pm$ 21,94
FOL-004 (60 nM)	1/5	29 $\pm$ 58	312,2 $\pm$ 15,60
FOL-005 (60 nM)	3/5	58 $\pm$ 14,58	348,80 $\pm$ 40,05
Vehículo	0/4*	0 $\pm$ 0	246,5 $\pm$ 8,35

5

El ciclo de crecimiento capilar consiste en tres fases: una fase telogénica de reposo (la piel de C57BU6 es de color rosa pálido), una fase anagénica de crecimiento capilar activo (donde la piel se vuelve gris oscura o negra) y finalmente una fase catagénica (donde se detiene el crecimiento capilar y la piel vuelve a la fase telogénica, regresando a un color rosa pálido).

10

En el presente estudio, se preseleccionaron los animales por su piel rosa (fase telogénica) y se administró el polipéptido de ensayo por vía subcutánea/tópica. Un buen promotor del crecimiento capilar desencadena la transición de la fase telogénica en reposo a la fase anagénica activa, y por tanto la transición de piel clara a piel oscura. Esta pigmentación oscura puede ser el resultado de la recogida de melanina en los folículos pilosos, en preparación para el crecimiento capilar nuevo durante la fase anagénica. La síntesis de melanina de los melanocitos foliculares está estrictamente acoplada con la fase anagénica, cesa durante la catagenia y está ausente en la fase telogénica. Por ello, un buen promotor del crecimiento capilar causa el ennegrecimiento de la piel dorsal. Tras la terminación, se extirpó entonces la piel dorsal de los animales por despellejamiento y se invirtió y observó en la piel despellejada la inducción de melanogénesis indicada por un ennegrecimiento visual. El análisis histológico revela el número de folículos y el grosor cutáneo. Un buen promotor del crecimiento capilar aumenta el nº de folículos en la zona subcutánea y el grosor cutáneo.

20

En el presente estudio, los tres polipéptidos de ensayo condujeron a la aparición de un crecimiento capilar denso después de tres inyecciones subcutáneas (véase el Ejemplo B anterior). Se observó también que, en algunos de los animales, después del crecimiento completo del pelo, el color de la piel cambió de negro a gris y a rosa, una característica de la fase catagénica. La piel despellejada recogida en el estudio mostraba la placa negra indicativa de fase anagénica (fase activa) del ciclo de crecimiento capilar debida a la acumulación de melanocitos. En estos animales, los resultados histológicos mostraban un gran número de folículos pilosos y aumento del grosor cutáneo. Pero, en algunos animales, cuando había ocurrido la fase catagénica, se encontró que la piel despellejada era de color rosa, aunque el recubrimiento de pelo estaba intacto. Por tanto, el análisis de dichas secciones de piel despellejada demostró falta de folículos en la zona subcutánea, pero un buen aumento del grosor cutáneo.

25

30

Conclusiones

35

Los polipéptidos de osteopontina mutados ejemplares de la descripción mostraban una inducción pronunciada de anagenia, como se evidenciaba por un aumento del número de folículos pilosos en la zona subcutánea y/o un grosor cutáneo mejorado.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> FOLLICUM AB

<120> Nuevas composiciones y usos de las mismas

5

<130> FOLBA/P51811PC

<140> PCT/GB2012/051955

<141> 10 de agosto de 2012

10

<150> US 61/1,113,770,0

<151> miércoles, 10 de agosto de 2011

<160> 123

15

<170> SeqWin99

<210> 1

<211> 293

20

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Osteopontina modificada

25

<400> 1

ES 2 740 826 T3

Met	Arg	Leu	Ala	Val	Ile	Cys	Phe	Cys	Leu	Phe	Gly	Ile	Ala	Ser	Ser	1	5	10	15
Leu	Pro	Val	Lys	Val	Thr	Asp	Ser	Gly	Ser	Ser	Glu	Glu	Lys	Leu	Tyr	20	25	30	
Ser	Leu	His	Pro	Asp	Pro	Ile	Ala	Thr	Trp	Leu	Val	Pro	Asp	Pro	Ser	35	40	45	
Gln	Lys	Gln	Asn	Leu	Leu	Ala	Pro	Gln	Asn	Ala	Val	Ser	Ser	Glu	Glu	50	55	60	
Lys	Asp	Asp	Phe	Lys	Gln	Glu	Thr	Leu	Pro	Ser	Asn	Ser	Asn	Glu	Ser	65	70	75	80
His	Asp	His	Met	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Gly	Asp	85	90	95	
His	Ala	Glu	Ser	Glu	Asp	Ser	Val	Asp	Ser	Asp	Glu	Ser	Asp	Glu	Ser	100	105	110	
His	His	Ser	Asp	Glu	Ser	Asp	Glu	Thr	Val	Thr	Ala	Ser	Thr	Gln	Ala	115	120	125	
Asp	Thr	Phe	Thr	Pro	Ile	Val	Pro	Thr	Val	Asp	Val	Pro	Asn	Gly	Asp	130	135	140	
Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser	Lys	Ser	Arg	Ser	Phe	Gln	Val	145	150	155	160
Ser	Asp	Glu	Gln	Tyr	Pro	Asp	Ala	Thr	Asp	Glu	Asp	Leu	Thr	Ser	His	165	170	175	
Met	Lys	Ser	Gly	Glu	Ser	Lys	Glu	Ser	Leu	Asp	Val	Ile	Pro	Val	Ala	180	185	190	

Gln	Leu	Leu	Ser	Met	Pro	Ser	Asp	Gln	Asp	Asn	Asn	Gly	Lys	Gly	Ser
		195					200					205			
His	Glu	Ser	Ser	Gln	Leu	Asp	Glu	Pro	Ser	Leu	Glu	Thr	His	Arg	Leu
	210					215					220				
Glu	His	Ser	Lys	Glu	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Asp	Gln	Ser	Asp	Val	Ile
225					230					235					240
Asp	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Lys	Ala	Ser	Leu	Glu	His	Gln	Ser	His	Lys
				245					250					255	
Phe	His	Ser	His	Lys	Asp	Lys	Leu	Val	Leu	Asp	Pro	Lys	Ser	Lys	Glu
			260					265					270		
Asp	Asp	Arg	Tyr	Leu	Lys	Phe	Arg	Ile	Ser	His	Glu	Leu	Glu	Ser	Ser
		275					280					285			
Ser	Ser	Glu	Val	Asn											
		290													

<210> 2

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Dominio RGD inactivado

10

<400> 2

Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser
1				5					10

<210> 3

15 <211> 299

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Osteopontina modificada

<400> 3

Met	Arg	Ile	Ala	Val	Ile	Cys	Phe	Cys	Leu	Leu	Gly	Ile	Thr	Cys	Ala	1	5	10	15
Ile	Pro	Val	Lys	Gln	Ala	Asp	Ser	Gly	Ser	Ser	Glu	Glu	Lys	Gln	Leu	20	25	30	
Tyr	Asn	Lys	Tyr	Pro	Asp	Ala	Val	Ala	Thr	Trp	Leu	Asn	Pro	Asp	Pro	35	40	45	
Ser	Gln	Lys	Gln	Asn	Leu	Leu	Ala	Pro	Gln	Thr	Leu	Pro	Ser	Lys	Ser	50	55	60	
Asn	Glu	Ser	His	Asp	His	Met	Asp	Asp	Met	Asp	Asp	Glu	Asp	Asp	Asp	65	70	75	80
Asp	His	Val	Asp	Ser	Gln	Asp	Ser	Ile	Asp	Ser	Asn	Asp	Ser	Asp	Asp	85	90	95	
Val	Asp	Asp	Thr	Asp	Asp	Ser	His	Gln	Ser	Asp	Glu	Ser	His	His	Ser	100	105	110	
Asp	Glu	Ser	Asp	Glu	Leu	Val	Thr	Asp	Phe	Pro	Thr	Asp	Leu	Pro	Ala	115	120	125	
Thr	Glu	Val	Phe	Thr	Pro	Val	Val	Pro	Thr	Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	130	135	140	
Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser	Lys	Ser	Lys	Lys	Phe	Arg	145	150	155	160
Arg	Pro	Asp	Ile	Gln	Tyr	Pro	Asp	Ala	Thr	Asp	Glu	Asp	Ile	Thr	Ser	165	170	175	
His	Met	Glu	Ser	Glu	Glu	Leu	Asn	Gly	Ala	Tyr	Lys	Ala	Ile	Pro	Val	180	185	190	
Ala	Gln	Asp	Leu	Asn	Ala	Pro	Ser	Asp	Trp	Asp	Ser	Arg	Gly	Lys	Asp	195	200	205	
Ser	Tyr	Glu	Thr	Ser	Gln	Leu	Asp	Asp	Gln	Ser	Ala	Glu	Thr	His	Ser	210	215	220	
His	Lys	Gln	Ser	Arg	Leu	Tyr	Lys	Arg	Lys	Ala	Asn	Asp	Glu	Ser	Asn	225	230	235	240
Glu	His	Ser	Asp	Val	Ile	Asp	Ser	Gln	Glu	Leu	Ser	Lys	Val	Ser	Arg	245	250	255	
Glu	Phe	His	Ser	His	Glu	Phe	His	Ser	His	Glu	Asp	Met	Leu	Val	Val	260	265	270	
Asp	Pro	Lys	Ser	Lys	Glu	Glu	Asp	Lys	His	Leu	Lys	Phe	Arg	Ile	Ser	275	280	285	
His	Glu	Leu	Asp	Ser	Ala	Ser	Ser	Glu	Val	Asn	290	295							

<210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Dominio RGD inactivado

 10 <400> 4

 Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

 <210> 5
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 15 aminoácidos preferido (FOL-004)
 20
 <400> 5

 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10 15

 <210> 6
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Péptido de 15 aminoácidos preferido

 <400> 6

 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10 15

 35 <210> 7
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Péptido de 14 aminoácidos preferido

 <400> 7

 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5 10

 45
 <210> 8
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>

<223> Péptido de 14 aminoácidos preferido

<400> 8

Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
1 5 10

5

<210> 9

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Péptido de 14 aminoácidos preferido

<400> 9

Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
1 5 10

15

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

25 <400> 10

Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
1 5 10

<210> 11

<211> 13

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

35

<400> 11

Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
1 5 10

<210> 12

40 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

<400> 12

Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
1 5 10

<210> 13

5 <211> 33

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

<400> 13

Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
1 5 10

15 <210> 14

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

<400> 14

Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
1 5 10

25

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

<400> 15

Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
1 5 10

35

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

45 <400> 16

Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
1 5 10

<210> 17
 <211> 12
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido34 de aminoácidos preferido

 Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

 10
 <210> 18
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

 <400> 18
 Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

 20
 <210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 11 aminoácidos preferido
 30 <400> 19

 Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5 10

 <210> 20
 <211> 11
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 11 aminoácidos preferido
 40
 <400> 20

 Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5 10

 <210> 21
 45 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

5 <400> 21

Val	Pro	Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly
1				5					10	

<210> 22

<211> 11

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

15

<400> 22

Pro	Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly	Leu
1				5					10	

<210> 23

<211> 11

20 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

25

<400> 23

Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly	Leu	Arg
1				5					10	

<210> 24

<211> 11

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

35

<400> 24

Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser
1				5					10	

<210> 25

40 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 25

Val	Asp	Val	Pro	Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu
1				5					10

<210> 26

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

Asp	Val	Pro	Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala
1				5					10

10 <223> Péptido36 de aminoácidos preferido

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

20 <400> 27

Val	Pro	Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr
1				5					10

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

30 <400> 28

Pro	Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly
1				5					10

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

40 <400> 29

Asn	Gly	Asp	Ile	Ser	Leu	Ala	Tyr	Gly	Leu
1				5					10

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 30

Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
1 5 10

<210> 31

<211> 10

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

10

<400> 31

Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
1 5 10

<210> 32

<211> 9

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

20

<400> 32

Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser
1 5

<210> 33

<211> 9

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
1 5

30

<400> 33

<210> 34

<211> 9

35 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

40

<400> 34

Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
1 5

<210> 35

45 <211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido38 de aminoácidos preferido

Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
1 5

<210> 36

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

<400> 36

Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
1 5

15 <210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

<400> 37

Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
1 5

25

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

<400> 38

Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
1 5

35

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

45 <400> 39

Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
1 5

<210> 40

5 <211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

<400> 40

Val Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile
1 5

15 <210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

<400> 41

Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser
1 5

25

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

<400> 42

Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
1 5

35

<210> 43

<211> 8

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

45 <400> 43

Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
1 5

<210> 44

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Péptido40 de aminoácidos preferido

Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5

<210> 45
 10 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

15 <400> 45

Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5

<210> 46
 <211> 8
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

25 <400> 46

Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
 1 5

<210> 47
 <211> 8
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

35 <400> 47

Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5

<210> 48
 <211> 7
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

Val Asp Val Pro Asn Gly Asp
 1 5

45 <400> 48

<210> 49

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido
 <400> 49

Asp Val Pro Asn Gly Asp Ile
 1 5

10
 <210> 50
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15
 <220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido
 <400> 50

Val Pro Asn Gly Asp Ile Ser
 1 5

20
 <210> 51
 <211> 7
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

30 <400> 51

Pro Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5

<210> 52
 <211> 7
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

40
 <400> 52

Asn Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5

<210> 53
 45 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 50 <223> Péptido41 de aminoácidos preferido

<400> 53

Gly Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
1 5

<210> 54

5 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 54

Asp Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
1 5

15 <210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

Ile Ser Leu Ala Tyr Gly Leu
1 5

<400> 55

25 <210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

<400> 56

Asp Val Pro Asn Gly Asp
1 5

35

<210> 57

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

<400> 57

Val Pro Asn Gly Asp Ile
1 5

45

<210> 58
 <211> 6
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

 10 <400> 58

 Pro Asn Gly Asp Ile Ser
 1 5

 <210> 59
 <211> 6
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

 20 <400> 59

 Asn Gly Asp Ile Ser Leu
 1 5

 <210> 60
 25 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

 <400> 60

 Gly Asp Ile Ser Leu Ala
 1 5

 35 <210> 61
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

 <400> 61

 Asp Ile Ser Leu Ala Tyr
 1 5

 45
 <210> 62
 <211> 6

 Ile Ser Leu Ala Tyr Gly
 1 5

<210> 63
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Péptido de 15 aminoácidos preferido

<400> 63

	Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg
10	1				5					10					15

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 15 aminoácidos preferido

20 <400> 64

	Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Ser
	1				5					10					15

<210> 65
 <211> 14
 <212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 14 aminoácidos preferido

30 <400> 65

	Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu
	1				5					10				

<210> 66
 <211> 14
 <212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 14 aminoácidos preferido

40 <400> 66

	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg
	1				5					10				

45 <210> 67

<210> 67
 <211> 14
 <212> PRT

50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 14 aminoácidos preferido

5 <400> 67

Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser
1				5					10				

<210> 68

<211> 13

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

15

<400> 68

Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly
1				5					10			

<210> 69

20 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

<400> 69

Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu
1				5					10			

30 <210> 70

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido de 13 aminoácidos preferido

<400> 70

Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg
1				5					10			

40

<210> 71

<211> 13

Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser
1				5					10			

45

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

5 <400> 72

Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr
1				5					10		

<210> 73

<211> 12

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

15

<400> 73

Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly
1				5					10		

<210> 74

20 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

<400> 74

Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu
1				5					10		

30 <210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

<400> 75

Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg
1				5					10		

40

<210> 76

<211> 46

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 12 aminoácidos preferido

50 <400> 76

Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser
1				5					10		

<210> 77
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

 10 <400> 77

 Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5 10

 <210> 78
 <211> 11
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 11 aminoácidos preferido
 20
 <400> 78

 Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5 10

 <210> 79
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

 <400> 79

 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5 10

 35 <210> 80
 <211> 11

 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5 10

 <210> 81
 40 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 45 <223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

 <400> 81

 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10

 <210> 82

<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <220>
<223> Péptido de 11 aminoácidos preferido

Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr	Gly	Leu	Arg	Ser
1				5					10	

<400> 82

10 <210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 83

Val	Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val
1				5					10

20 <210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 84

Asp	Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val
1				5					10

30

<210> 48
<211> 48
35 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

40 <400> 85

Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val	Tyr
1				5					10

<210> 86
45 <211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
50 <223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 86

Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
1 5 10

<210> 87

5 <211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 87

Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
1 5 10

15 <210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido de 10 aminoácidos preferido

<400> 88

Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
1 5 10

25

<210> 89

<211> 10

Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
1 5 10

30 <210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

<400> 90

Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
1 5

40 <210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
1 5

<400> 91

<210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

 10 <400> 92

 Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
 1 5

 <210> 93
 <211> 9
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido de 9 aminoácidos preferido
 20
 <400> 93

 Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5

 25 <210> 50
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 30 <220>
 <223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

 <400> 94

 Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5
 35
 <210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

 <400> 95

 Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
 1 5
 45
 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

<400> 96

5 **Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg**
 1 5

<210> 97

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 9 aminoácidos preferido

15 <400> 97

Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5

<210> 98

<211> 8

20

Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile
 1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

30 <400> 99

Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
 1 5

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5

40 <400> 100

<210> 101

<211> 8

<212> PRT

45 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

<400> 101

Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
1 5

<210> 102

5 <211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

<400> 102

Asp Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
1 5

15

<210> 103

<211> 52

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

<400> 103

Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
1 5

25

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

35 <400> 104

Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
1 5

<210> 105

<211> 8

40 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 8 aminoácidos preferido

45

<400> 105

Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg
1 5

<210> 106

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 106

Val Asp Thr Tyr Asp Gly Asp
 1 5

10

<210> 107
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 10

Asp Thr Tyr Asp Gly Asp Ile
 1 5

20

<210> 108
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 108

Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Ser
 1 5

30

<210> 109
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

Tyr Asp Gly Asp Ile Ser Val
 1 5

<400> 109

40

<210> 110
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 110

Asp Gly Asp Ile Ser Val Val
1 5

<210> 111

<211> 7

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

10

<400> 111

Gly Asp Ile Ser Val Val Tyr
1 5

15 <210> 54

<211> 54

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 112

Asp Ile Ser Val Val Tyr Gly
1 5

25

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Péptido de 7 aminoácidos preferido

<400> 113

Ile Ser Val Val Tyr Gly Leu
1 5

35

<210> 114

<211> 6

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

45 <400> 114

Asp Thr Tyr Asp Gly Asp
1 5

<210> 115

<211> 6

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

<400> 115

Thr	Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile
1				5	

10 <210> 116

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

<400> 116

Tyr	Asp	Gly	Asp	Ile	Ser
1				5	

20 <210> 117

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

<400> 117

Asp	Gly	Asp	Ile	Ser	Val
1				5	

30 <210> 118

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

Gly	Asp	Ile	Ser	Val	Val
1				5	

<400> 118

40 <210> 119

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

<400> 119

Asp Ile Ser Val Val Tyr
 1 5

<210> 120
 <211> 6
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido de 6 aminoácidos preferido

10 <400> 120

Ile Ser Val Val Tyr Gly
 1 5

<210> 56
 15 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 20 <223> FOL-001

Val Asp Val Pro Asn Gly Arg Gly Asp Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10 15

<400> 121

<210> 122
 25 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 122

Arg Gly Asp Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg Ser
 1 5 10

30

<210> 123
 <211> 7
 <212> PRT
 35 <213> Homo sapiens

<400> 123

Ser Leu Ala Tyr Gly Leu Arg
 1 5

40

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica de SEC ID NO: 63 o un fragmento de la misma, que retiene una actividad estimuladora del crecimiento del cabello de la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 63.
- 5 2. El polipéptido según la reivindicación 1 que comprende o consiste en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 63.
- 10 3. El polipéptido según la reivindicación 1 o 2, en el que el polipéptido comprende o consiste en una secuencia aminoacídica seleccionada del grupo que consiste en SEC ID NO: 64, 66, 67, 70, 71, 75, 76, 81, 82 y 88.
4. El polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polipéptido está aislado.
5. Una composición que comprende:- 15 (a) un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y
(b) un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable y/o cosméticamente aceptable.
6. La composición según la reivindicación 5 para administración tópica o intracutánea.
- 20 7. La composición según la reivindicación 5 o 6 para uso médico.
8. La composición según la reivindicación 5 o 6 para uso médico en el tratamiento o prevención de la pérdida de cabello inducida por radioterapia y/o quimioterapia.
- 25 9. La composición según la reivindicación 5 o 6 para uso médico en el tratamiento o prevención de la alopecia.
10. Uso de una composición según la reivindicación 5 o 6 para fines cosméticos.

FIGURA 1

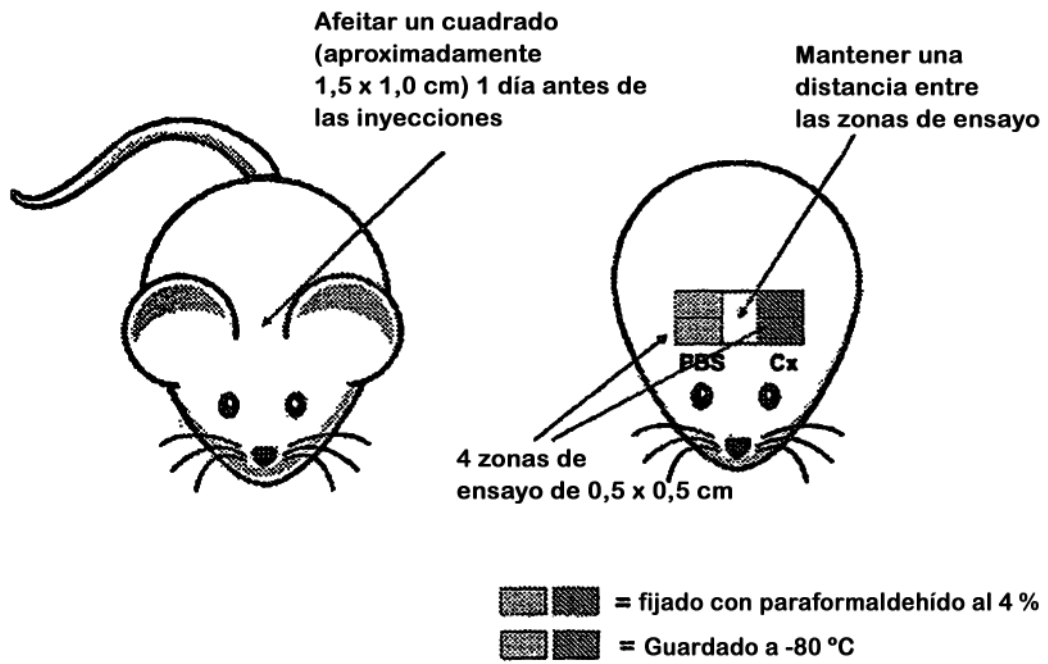


FIGURA 2

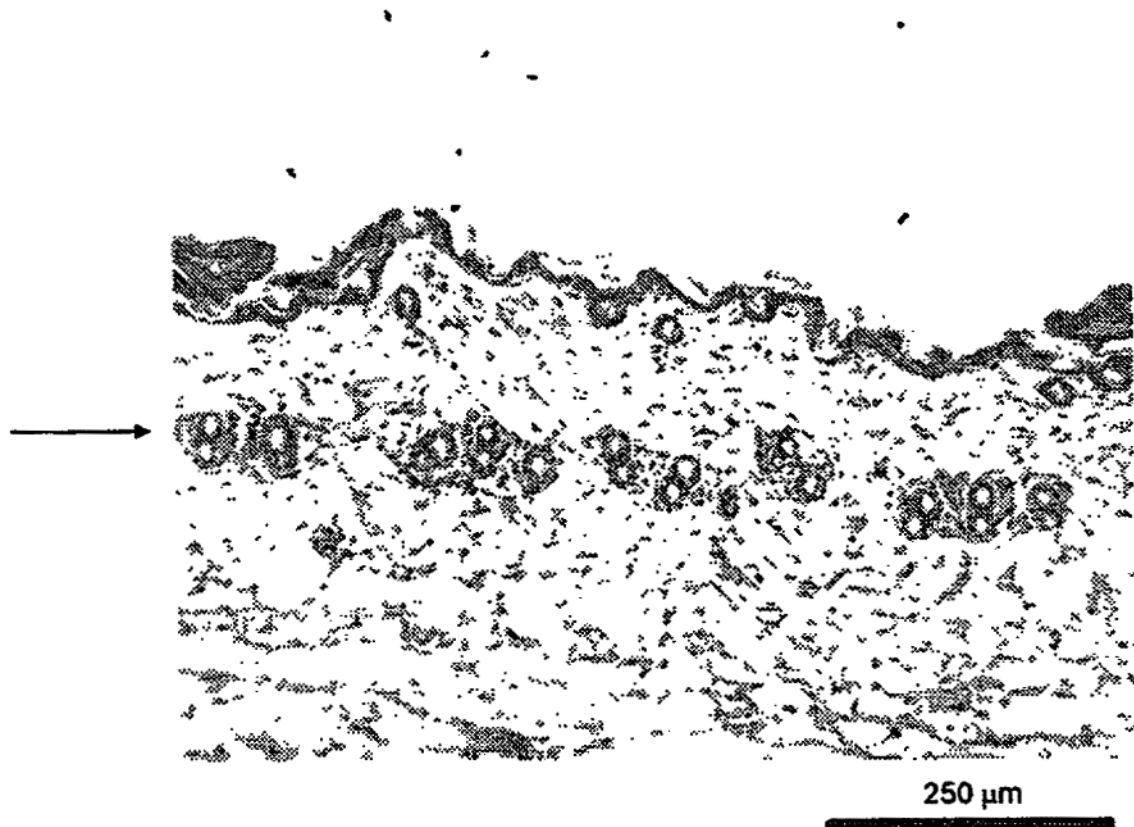


FIGURA 3

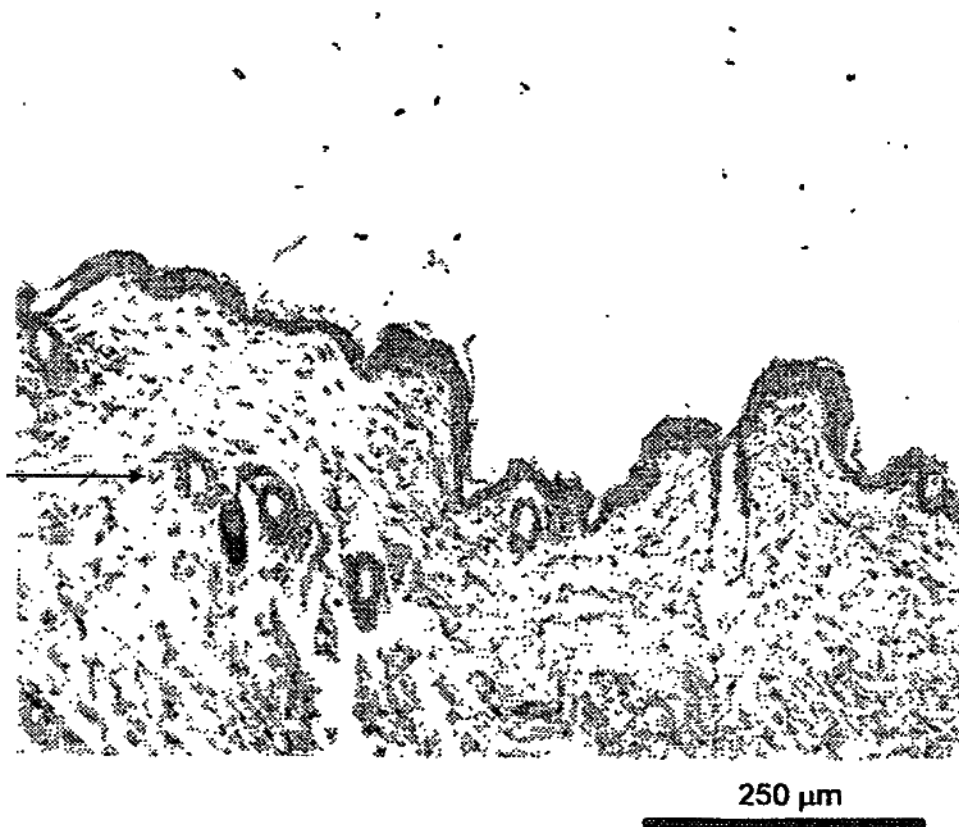


FIGURA 4(A)

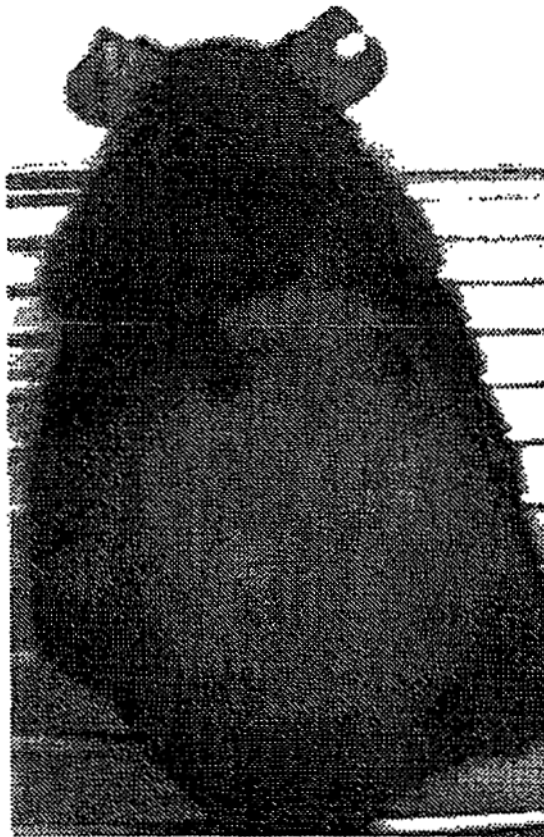


FIGURA 4(B)



FIGURA 4(C)



FIGURA 4(D)



FIGURA 5

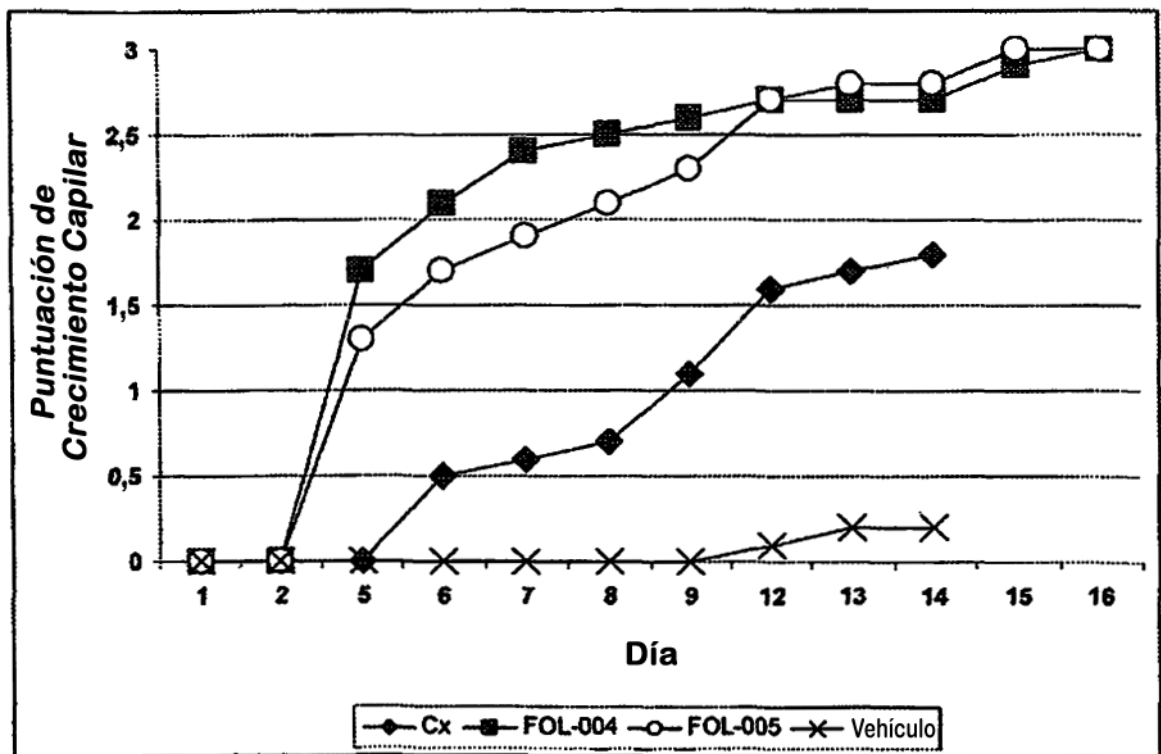


FIGURA 6

