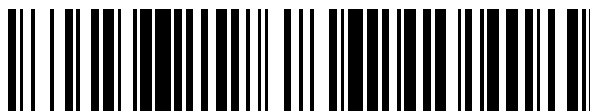


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 663**

51 Int. Cl.:

C07K 14/705 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.10.2017** E 17198390 (1)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019** EP 3333184

54 Título: **Composiciones y métodos para inhibir interacciones de CD279**

30 Prioridad:

09.12.2016 US 201615374893

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

04.06.2020

73 Titular/es:

**VIROGIN BIOTECH CANADA LTD (100.0%)
408-3800 Wesbrook Mall
Vancouver, British Columbia V6S 2L9, CA**

72 Inventor/es:

**JIA, WILLIAM;
BU, XUEXIAN y
LEE, I-FANG**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 764 663 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

Composiciones y métodos para inhibir interacciones de CD279

Campo técnico

5 El campo de la presente invención se refiere a ciertas composiciones y métodos que son útiles para prevenir, tratar y/o mejorar los efectos de varios tipos de cáncer. Más en particular, el campo de la presente invención se refiere a ciertas composiciones y métodos que se pueden usar para inhibir las interacciones PD-1/PD-L1 y/o PD-1/PD-L2, lo cual puede ser útil además para prevenir, tratar, y/o mejorar los efectos de varios tipos de cáncer.

Antecedentes de la invención

10 La proteína de la muerte programada 1 (PD-1), también conocida como CD279, es un receptor inhibidor que pertenece a la familia de receptores CD28. PD-1 se expresa en células T activadas, células B y células mieloides y contiene un motivo de inhibición de inmunorreceptor basado en tirosina proximal de membrana (ITIM) y un motivo de cambio basado en tirosina distal de membrana (ITSM). Se ha descrito que la PD-1 es un punto de control inmunitario y que tiene una función importante en la regulación por disminución del sistema inmunitario al prevenir la activación de células T. Se ha encontrado que la unión de PD-1 por sus ligandos genera una señal inhibidora que da como resultado la producción reducida de citoquinas y menor supervivencia de las células T. Se han identificado previamente dos ligandos para PD-1, que se han denominado, en la técnica anterior, ligando de muerte programada 1 (PD-L1) (B7-H1) y ligando de muerte programada 2 (PD-L2) (B7-DC), y se ha mostrado que regulan por disminución la activación de las células T tras la unión a PD-1. Además, también se ha encontrado que la interacción entre PD-1 y PD-L1 da como resultado una disminución de los linfocitos infiltrantes de tumores, una disminución de la proliferación mediada por el receptor de células T y la evasión inmunitaria por las células cancerosas.

15 En vista de lo anterior, sería deseable identificar y desarrollar uno o más péptidos que sean eficaces para competir con PD-L1 y/o PD-L2 por la unión a PD-1, lo que puede inhibir así las Interacciones PD-1/PD-L1 y/o PD-1/PD-L2. Dichos efectos inhibidores serán preferiblemente útiles para prevenir, tratar y/o mejorar los efectos de diferentes tipos de cáncer. Como demostrará lo siguiente, la presente invención proporciona dichos péptidos, usos de dichos péptidos y otras ventajas descritas en la presente memoria.

Sumario de la invención

De acuerdo con ciertos aspectos de la presente invención, se proporcionan péptidos aislados y purificados que se representan por las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus derivados (tales como SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36), y sus combinaciones.

30 Además, la presente invención abarca composiciones de calidad farmacéutica que comprenden un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus derivados y sus combinaciones.

De acuerdo con aspectos adicionales de la presente invención, se proporcionan métodos para usar las composiciones descritas en la presente memoria. Más en particular, por ejemplo, la invención abarca métodos in vitro para inhibir interacciones entre PD-1 y PD-L1 en una o más células por la administración de una composición descrita en la presente memoria, tal como una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus derivados (como las de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36), o composiciones de calidad farmacéutica que comprenden cualquiera de dichos péptidos. La presente descripción describe métodos para aumentar los niveles de IL-2 en una o más células por administración de una composición descrita en la presente memoria, tal como una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus derivados, sus combinaciones, péptidos que son sustancialmente homólogos a cualquiera de dichos péptidos, o composiciones de calidad farmacéutica que comprenden cualquiera de dichos péptidos. Aún más, la presente invención abarca péptidos descritos en la presente memoria para usar en la prevención, tratamiento o mejora de los efectos del cáncer en un sujeto administrando una cantidad eficaz de los péptidos descritos en la presente memoria, tal como una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus derivados, sus combinaciones o composiciones de calidad farmacéutica que comprenden cualquiera de dichos péptidos.

45 De acuerdo con otros aspectos más de la invención, se proporcionan ciertos derivados de SEQ ID NO: 1 (tales como los de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36). Más en particular, dichas realizaciones de la invención incluyen péptidos que consisten en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36, y composiciones de calidad farmacéutica que comprenden dichos péptidos. Aún más, de acuerdo con realizaciones relacionadas, la invención abarca (i) métodos in vitro para inhibir la interacción entre PD-1 y PD-L1 en una o más células, y (ii) los péptidos derivados mencionados antes para usar en la prevención, tratamiento o mejora de los efectos del cáncer en un sujeto, administrando una cantidad eficaz de uno o más de dichos péptidos derivados al sujeto.

Las características adicionales y mencionadas antes de la presente invención se ilustran más en la Descripción detallada contenida en la presente memoria.

Breve descripción de la lista de secuencias

SEQ ID. NO.	Secuencia	Descripción
1	WYRMSPSNQT	Péptido denominado en la presente memoria "WT"
2	TAHPSPSPRSAGQF	Péptido denominado en la presente memoria "TF"
3	WYRMSPSNQD	Un derivado del péptido WT
4	WYRMSPSNQE	Un derivado del péptido WT
5	WYRMSPSNDT	Un derivado del péptido WT
6	WYRMSPSNET	Un derivado del péptido WT
7	WYRMSPSEQT	Un derivado del péptido WT
8	WYRMSPDNQT	Un derivado del péptido WT
9	WYRMSPENQT	Un derivado del péptido WT
10	WYRMSPPNQT	Un derivado del péptido WT
11	WYRMSDSNQT	Un derivado del péptido WT
12	WYRMSESNQT	Un derivado del péptido WT
13	WYRMAPSNQT	Un derivado del péptido WT
14	WYRMQPSNQT	Un derivado del péptido WT
15	WYRMMPSNQT	Un derivado del péptido WT
16	WYRMPPSNQT	Un derivado del péptido WT
17	WYRDSPSNQT	Un derivado del péptido WT
18	WYRESPSNQT	Un derivado del péptido WT
19	WYIMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
20	WYLMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
21	WYYMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
22	WYVMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
23	DYRMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
24	QYRMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
25	EYRMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
26	MYRMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
27	TYRMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
28	YYRMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
29	WYRMSWSNQT	Un derivado del péptido WT
30	WYRMYPNQT	Un derivado del péptido WT
31	WYRNPSNQT	Un derivado del péptido WT
32	WYTMSPSNQT	Un derivado del péptido WT
33	FQGASRPSPSPHAT	Péptido denominado en la presente memoria "D-FT"
34	TQNSPSMRYW	Péptido denominado en la presente memoria "D-TW"
35	WNRLSPSNQT	Péptido WT de ratón
36	TRYPSPSPKPEGRF	Péptido TF de ratón

Breve descripción de las figuras

5 La figura 1 es una gráfica que muestra los resultados de ELISA de competición de péptidos WT (SEQ ID NO: 1) y TF (SEQ ID NO: 2), y la eficacia inhibidora en la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 2A es una gráfica que muestra los resultados del ensayo in vitro del péptido WT en la inhibición de la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 2B es una gráfica que muestra los resultados del ensayo in vitro del péptido TF en la inhibición de la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 2C es una gráfica que muestra los resultados del ensayo in vitro de una combinación de péptidos WT y TF en la inhibición de la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 3A es una gráfica que muestra los resultados del ensayo basado en células del tratamiento con péptido WT que inhibe la interacción PD-1/PD-L1.

- 5 La figura 3B es una gráfica que muestra los resultados del ensayo basado en células del tratamiento con péptido TF que inhibe la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 3C es una gráfica que muestra los resultados del ensayo basado en células del tratamiento con péptidos WT y TF que inhibe la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 4 muestra los resultados de la matriz de péptidos descritos en la presente memoria.

- 10 La figura 5A resume los resultados de un ensayo ELISA, que muestra el bloqueo de la unión de PD-L1 a PD-1 por péptidos bloqueadores de PD-L1 combinados.

La figura 5B resume los resultados de un ensayo basado en células, que muestra diferentes combinaciones de tratamiento con péptidos bloqueadores de PD-L1 que inhiben las interacciones PD-1/PD-L1.

- 15 La figura 6 resume los resultados de un ensayo de citotoxicidad, que muestra que el bloqueo de PD-L1 por péptidos combinados mejora la citotoxicidad contra células tumorales.

La figura 7 resume los resultados de un ensayo que muestra los efectos de diferentes bloqueadores de PD-L1 en los niveles de SHP-2 fosforilada.

La figura 8 resume los resultados de un ensayo que muestra los efectos de bloqueadores de PD-L1 adicionales en los niveles de SHP-2 fosforilada.

- 20 La figura 9A resume los resultados de un ensayo que muestra el bloqueo de la unión de PD-L1 de ratón a PD-1 de ratón por péptidos de ratón.

La figura 9B muestra la diferencia en la composición de aminoácidos entre los péptidos WT y TF humanos y de ratón a los que se hace referencia en los ejemplos.

- 25 La figura 10A resume los resultados de un ensayo ELISA que muestra el bloqueo de la unión de PD-L1 a PD-1 por diferentes formas de péptidos bloqueadores de PD-L1.

La figura 10B resume los resultados de un ensayo basado en células que muestra diferentes formas de tratamiento con péptidos bloqueadores de PD-L1 que inhiben la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 11 muestra los resultados de un experimento in vivo, que muestra los efectos de D-TW en ratones que albergan la línea de células tumorales LL/2.

- 30 La figura 12 muestra los resultados de un experimento in vivo, que muestra los efectos de D-TW en el tamaño del tumor en el modelo de ratón al que se hace referencia en la figura 11.

Descripción detallada de la invención

- 35 La invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Cualquier realización descrita en la presente memoria que no se menciona en las reivindicaciones adjuntas no forma parte de la invención. Lo siguiente describirá en detalle varias realizaciones preferidas de la presente invención. Estas realizaciones se proporcionan solo a modo de explicación y, por lo tanto, no deben restringir indebidamente el alcance de la invención.

De acuerdo con ciertas realizaciones preferidas de la presente invención, se proporcionan péptidos aislados y purificados que se representan por las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus combinaciones y sus derivados (tal como los de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36).

- 40 Aún más, la presente invención abarca composiciones de calidad farmacéutica que comprenden un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, sus combinaciones y sus derivados (tal como los de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36).

- 45 Los péptidos de la presente invención se pueden producir por métodos de síntesis química que son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los péptidos se pueden sintetizar por vía química usando técnicas de Merrifield automatizadas de síntesis en fase sólida con el α -NH₂ protegido por la química de t-Boc o F-moc, usando aminoácidos protegidos en la cadena lateral en, por ejemplo, un sintetizador de péptidos de Applied Biosystems. Los péptidos de la presente invención también se pueden producir usando tecnología de ADN recombinante, que incluye moléculas de ácido nucleico, vectores y/o células hospedantes. Como tal, las moléculas de ácido nucleico que codifican los péptidos descritos en la presente memoria también están abarcadas por la presente descripción. De manera similar,
50 los vectores, incluidos los vectores de expresión, que comprenden moléculas de ácido nucleico, así como las células

hospedantes que contienen los vectores, también están abarcados por la presente descripción.

Aún más, la descripción describe ciertos fragmentos y derivados de los péptidos representados por las SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 36. Por ejemplo, los péptidos representados por las SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 36 se pueden modificar sustituyendo uno o más restos de aminoácidos dentro de dichos péptidos, en particular las llamadas sustituciones de aminoácidos conservadoras, p. ej., un aminoácido se puede sustituir por un aminoácido alternativo que tiene propiedades similares (es decir, sustituciones dentro de la misma clase de restos de aminoácidos resumidos a continuación). Para fines de ilustración, las sustituciones se pueden agrupar en seis clases basadas en las propiedades comunes de la cadena lateral (o "grupo R") y la mayor frecuencia de sustitución en proteínas homólogas en la naturaleza, según se determina, por ejemplo, por una matriz de intercambio de frecuencias de Dayhoff estándar. La siguiente tabla representa un ejemplo de dichas clases:

Clase	Restos	Descripción
Clase I	Cisteína	
Clase II	Serina, treonina, prolina, hidroxiprolina, alanina y glicina	Cadenas laterales pequeñas alifáticas y con grupo OH
Clase III	Asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico y glutamina	Cadenas laterales neutras y con cargada negativa capaces de formar enlaces de hidrógeno
Clase IV	Histidina, arginina y lisina	Cadenas laterales polares básicas
Clase V	Isoleucina, valina, leucina y metionina	Cadenas laterales alifáticas ramificadas (excepto Met)
Clase VI	Fenilalanina, tirosina y triptófano	Cadenas laterales aromáticas

Además, cada una de las clases anteriores puede incluir además análogos de aminoácidos relacionados, tales como ornitina, homoarginina, N-metil-lisina, dimetil-lisina o trimetil-lisina en la clase IV, y una tirosina halogenada en la clase VI.

Además, los péptidos descritos en la presente memoria se pueden modificar por sustitución sistemática de uno o más aminoácidos por un D-aminoácido del mismo tipo (p. ej., D-lisina en lugar de L-lisina), lo cual se puede implementar para generar péptidos más estables. Por lo tanto, un derivado peptídico o peptidomimético de la presente invención puede ser péptido todo L, todo D o D,L mixto, en orden directo o inverso. La presencia de un D-aminoácido N-terminal o C-terminal aumenta la estabilidad in vivo de un péptido, puesto que las peptidasas no pueden usar un D-aminoácido como sustrato. Los péptidos D inversos son péptidos que contienen D-aminoácidos, dispuestos en una secuencia inversa con respecto a un péptido que contiene L-aminoácidos. Por ejemplo, la SEQ ID NO: 33 representa la versión de D-aminoácidos inversa de TF (SEQ ID NO: 2); y la SEQ ID NO: 34 representa la versión de D-aminoácidos inversa de WT (SEQ ID NO: 1). Por lo tanto, el resto C-terminal de un péptido de L-aminoácidos se convierte en N-terminal para el péptido de D-aminoácidos, etc. Los péptidos D inversos conservan la misma conformación secundaria y, por lo tanto, actividad similar, que los péptidos de L-aminoácidos, pero son más resistentes a la degradación enzimática in vitro e in vivo, y por lo tanto pueden tener una mayor eficacia terapéutica que el péptido original. De manera similar, se puede generar un péptido L inverso usando métodos convencionales donde el extremo C del péptido original toma el lugar del extremo N del péptido L inverso. La descripción proporciona que los péptidos L inversos de péptidos de L-aminoácidos que no tienen estructura secundaria significativa (p. ej., péptidos cortos) retienen la misma separación y conformación de las cadenas laterales del péptido de L-aminoácidos y, por lo tanto, a menudo tienen una actividad similar al péptido de L-aminoácidos original. Además, un péptido inverso puede contener una combinación de aminoácidos L y D. La separación entre los aminoácidos y la conformación de las cadenas laterales se puede retener dando como resultado una actividad similar a la del péptido de L-aminoácidos original.

Aún más, los péptidos descritos se pueden modificar para incluir marcadores y/o conectores añadidos a los mismos, que se pueden usar con fines de formación de imágenes, con fines de suministro de fármacos o para proporcionar una carga útil terapéutica adicional. Por ejemplo, los péptidos de la presente descripción se pueden fusionar con un dominio C de IgG humana, diseñándose el anticuerpo IgG para dirigirse a y combatir células tumorales. Aún más, los péptidos de la presente invención se pueden fusionar o unir a una región de fragmento cristalizable (Fc) de un anticuerpo. Además, los péptidos de la presente descripción incluyen fragmentos y formas alargadas de los péptidos representados por la SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 36. Según otros aspectos adicionales, los péptidos descritos se pueden modificar química y/o estructuralmente, p. ej., para aumentar la cantidad de tiempo que los péptidos permanecerán activos en un sistema biológico (o para mejorar de otra forma la farmacocinética de los péptidos). Por ejemplo, los péptidos se pueden modificar para incluir diversos grupos químicos, moléculas o ajustes estructurales, tales como glicosilación, acetilación, acilación, ribosilación de ADP, amidación, unión covalente a polietilenglicol (p. ej., PEGilación), unión covalente de flavina, unión covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formilación, carboxilación gamma, formación de anclaje GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, ubiquitinación, modificaciones con ácidos grasos y varias otras modificaciones que se pueden diseñar para mejorar la farmacocinética de los péptidos.

La descripción proporciona que el término "péptido", como se usa en la presente memoria, puede incluir no solo moléculas en las que los restos de aminoácidos están unidos por los enlaces peptídicos convencionales (--CO--NH--), sino también moléculas en las que el enlace peptídico está a la inversa. Dichos peptidomiméticos retro-inversos se pueden producir usando métodos conocidos en la técnica, tales como los descritos en Meziere et al. (1997) *J. Immunol.* 159, 3230-3237 (dicho planteamiento implica producir pseudopéptidos que contienen cambios que implican la cadena principal, y no la orientación de las cadenas laterales de aminoácidos).

La descripción describe que los péptidos individuales se pueden administrar a una célula objetivo (o una pluralidad de células) directamente o, alternativamente, se pueden administrar indirectamente por expresión de una secuencia codificante. Por ejemplo, se puede proporcionar un polinucleótido (secuencia de ácido nucleico) a una célula o sujeto que codifica un péptido de la invención, tal como cualquiera de los péptidos representados por las SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 36, así como formas modificadas de las mismas. Por lo tanto, un péptido de la descripción se puede producir o suministrar en forma de un polinucleótido que codifica, y es capaz de expresar, un péptido de la presente invención. Cualquier referencia en la presente memoria al uso, suministro o administración de un péptido de la descripción se pretende que incluya el uso, suministro o administración indirectos de dicho péptido por expresión de un polinucleótido que codifica el péptido.

Más en particular, se puede proporcionar una molécula de ácido nucleico de la descripción en forma aislada o purificada, que codifica un péptido seleccionado de la presente descripción, que se puede transcribir (en el caso de ADN) y traducir (en el caso de ARNm) en un péptido in vivo cuando se pone bajo el control de secuencias reguladoras adecuadas. Los límites de la secuencia que codifica el péptido están determinados por un codón de inicio en el extremo 5' (amino) y un codón de parada de la traducción en el extremo 3' (carboxi). Para los propósitos de la presente descripción, dichas secuencias de ácido nucleico pueden incluir, pero no se limitan a, ADNc de ARNm vírico, procariota o eucariota, secuencias genómicas de ADN o ARN vírico o procariota, e incluso secuencias de ADN sintéticas. Las moléculas de ácido nucleico de la presente descripción se pueden sintetizar de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica, como se describe a modo de ejemplo en Sambrook et al. (19104, *Molecular Cloning--a laboratory manual*; Cold Spring Harbor Press). Por lo tanto, las moléculas de ácido nucleico de la presente descripción se pueden proporcionar en forma de un casete de expresión, que incluye secuencias de control unidas operativamente a la secuencia que codifica el péptido, permitiendo así la expresión del péptido aplicable de la invención in vivo en una célula objetivo o sujeto. Estos casetes de expresión, a su vez, se proporcionan típicamente dentro de vectores, p. ej., plásmidos o vectores víricos recombinantes, tales como virus del herpes simple 1 (HSV-1). Por ejemplo, un casete de expresión se puede administrar directamente a una célula hospedante o sujeto, o, alternativamente, un vector que comprende un ácido nucleico que codifica el péptido de la invención se puede administrar a una célula hospedante o sujeto. Los métodos para suministrar secuencias de ácido nucleico exógenas a una célula hospedante o sujeto son bien conocidos en la técnica, como se describe, por ejemplo, en las Pat. de EE.UU. N° 5 399 346, 5 580 859 y 5 510 466.

Aún más, la descripción describe que formas aisladas y purificadas de los péptidos descritos en la presente memoria, que incluyen diversas combinaciones y mezclas de dichos péptidos, se pueden administrar directamente a una célula hospedante o sujeto. Por ejemplo, dichos péptidos se pueden administrar junto con vehículos, diluyentes y adyuvantes farmacéuticamente aceptables (calidad farmacéutica), tales como solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco, pH aproximadamente 7.4; solución salina al 0.9% (NaCl al 0.9% p/v); y dextrosa al 5% (p/v). Los vehículos, diluyentes y adyuvantes farmacéuticamente aceptables (calidad farmacéutica) usados para suministrar un péptido de la presente descripción a una célula objetivo, preferiblemente, no inducirán una respuesta inmunitaria en el individuo (sujeto) que recibe el péptido (y preferiblemente se administrarán sin toxicidad indebida). Los excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, pero no se limitan a agua, solución salina, polietilenglicol, ácido hialurónico y etanol. También se pueden incluir sales farmacéuticamente aceptables, p. ej., sales de ácido mineral (tales como hidroclouros, hidrobromuros, fosfatos, sulfatos y similares) y las sales de ácidos orgánicos (tales como acetatos, propionatos, malonatos, benzoatos y similares). Está disponible una descripción exhaustiva de los vehículos, diluyentes y adyuvantes farmacéuticamente aceptables en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., NJ 1991).

Como se ha descrito antes, la presente descripción abarca ciertos métodos de uso de los péptidos descritos en la presente memoria. Más en particular, por ejemplo, la descripción abarca métodos in vitro para inhibir interacciones entre PD-1 y PD-L1 en una o más células, administrando uno o más péptidos descritos en la presente memoria, a una o más células objetivo, tal como una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2, sus combinaciones, sus derivados (tales como los de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36), o composiciones de calidad farmacéutica (tal como las descritas antes) que comprenden cualquiera de dichos péptidos. Asimismo, la presente descripción abarca métodos in vitro para aumentar los niveles de IL-2 en una o más células por administración de uno o más péptidos descritos en la presente memoria, tal como una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2, sus combinaciones, sus derivados (tal como los de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36), o composiciones de calidad farmacéutica que comprenden cualquiera de dichos péptidos. Aún más, la presente descripción abarca los péptidos descritos en la presente memoria, tal como una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2, sus combinaciones, sus derivados (tal como los de SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36), o composiciones de calidad farmacéutica que comprenden cualquiera de dichos péptidos, para usar en la prevención, tratamiento o mejora de los efectos del cáncer en un sujeto, mediante la administración de uno o más de dichos péptidos a dicho sujeto.

Como se ha descrito antes, de acuerdo con otras realizaciones adicionales de la invención, ciertos derivados de SEQ ID NO: 1 se pueden usar en los métodos mencionados antes. Más en particular, los péptidos que consisten en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 3 - SEQ ID NO: 36, o sus combinaciones, y composiciones de calidad farmacéutica que comprenden dichos péptidos, se pueden usar en los métodos mencionados antes. Más en particular, dichos péptidos derivados se pueden usar para llevar a cabo (i) métodos *in vitro* para inhibir la interacción entre PD-1 y PD-L1 en una o más células, o (ii) para usar en métodos para prevenir, tratar o mejorar los efectos del cáncer en un sujeto, por administración de una cantidad eficaz de uno o más de dichos péptidos derivados.

La descripción describe que los péptidos de la presente descripción, o las secuencias de ácido nucleico que codifican uno o más péptidos de la presente descripción, se deben administrar a una célula o sujeto en una cantidad que sea eficaz para lograr el punto final deseado. En particular, los péptidos de la presente descripción, o secuencias de ácido nucleico que codifican uno o más péptidos de la presente descripción, se deben administrar a una célula o sujeto en una cantidad que sea eficaz para (i) inhibir la interacción entre PD-1 y PD-L1 en las células objetivo, (ii) aumentar los niveles de IL-2 en las células objetivo, y/o (iii) prevenir, tratar o mejorar los efectos del cáncer en el sujeto objetivo. La descripción describe que los péptidos descritos en la presente memoria se pueden administrar a una célula o sujeto en combinación o secuencialmente con otros agentes que presentan propiedades similares (p. ej., cuando los péptidos descritos en la presente memoria se administran para prevenir, tratar o mejorar los efectos del cáncer, los péptidos se pueden administrar a una célula o sujeto en combinación o en serie con otros agentes que son eficaces para prevenir, tratar o mejorar los efectos del cáncer).

La cantidad administrada a una célula o sujeto dependerá de una variedad de factores. Por ejemplo, en el caso de un uso terapéutico de los péptidos, la cantidad puede variar dependiendo del tamaño/peso del sujeto y la vía de administración, tal como por vía oral (p. ej., en forma de comprimidos, pastillas para chupar, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables), parenteral, epicutánea, subcutánea, por inhalación, intravenosa, intramuscular, intraesternal, transdérmica, intradérmica, sublingual, intranasal, bucal o por técnicas de infusión. A modo de ilustración adicional (y no de limitación), la cantidad del(de los) péptido(s) administrado(s) puede estar en el intervalo de aproximadamente 5 µg a aproximadamente 100 mg de péptido; o entre aproximadamente 300 µg y aproximadamente 1 mg de péptido; o cantidades en la región de 300 µg, 350 µg, 400 µg, 450 µg, 500 µg, 550 µg, 600 µg, 650 µg, 700 µg, 750 µg, 800 µg, 850 µg, 900 µg, 950 µg o 1 mg del péptido aplicable (o mezclas de péptidos).

Ejemplos

Usando un método de matriz de péptidos, los autores de la invención descubrieron y sintetizaron químicamente dos péptidos (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2), a los que se denomina en la presente memoria WT y TF, respectivamente. SEQ ID NO: 1/WT representa la secuencia de WYRMSPSNQT. SEQ ID NO: 2/TF representa la secuencia de TAHPSPPRPAGQF. Como demostrará lo siguiente, WT y TF (y varios de sus derivados) se unen a PD-L1 y evitan que PD-L1 interactúe con PD-1. Más en particular, como se describe más a continuación, se llevaron a cabo una serie de experimentos para evaluar la eficacia inhibidora de los péptidos WT y TF (y algunos de sus derivados) en la interacción PD-1/PD-L1 (así como el impacto de dicha inhibición en los niveles de IL-2).

La figura 1 muestra los resultados del ELISA de competición de los péptidos WT y TF. La unión del péptido WT o TF a PD-L1 humana se probó por ELISA de competición. Se mezclaron concentraciones variables de cada péptido (0.008 µg/ml a 10 µg/ml) con una concentración fija de Fc de PD-1 humano recombinante (10 ng/ml) y se unieron a una placa de fondo plano Immuno Maxisorp de 96 pocillos recubiertos con Fc de PD-L1 humano. La unión se detectó mediante un anticuerpo anti-PD-1 biotinilado, estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) y sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). Las mediciones de absorbancia se recogieron a 450 nm mediante un lector de placa. Las lecturas de absorbancia se representaron frente a la concentración de péptido de ensayo. Como se muestra en la figura 1, a medida que aumentaban las concentraciones de péptido de ensayo (WT, TF), aumentaba el porcentaje (%) de inhibición (es decir, aumentaba la capacidad del péptido de ensayo para interferir con la interacción PD-1/PD-L1).

La figura 2 muestra resultados de ensayos *in vitro* de péptidos WT, TF o WT y TF combinados en la inhibición de la interacción PD-1/PD-L1 (y los efectos resultantes en la concentración de IL-2). Se activaron 5x10⁴ células T Jurkat con 1 µg/ml de fitohemaglutinina (PHA) y 50 ng/ml de 12-miristato 13-acetato de forbol (PMA) y se cocultivaron con Fc de PD-L1 humano recombinante (8 µg/ml) más 1 - 10 µg/ml de WT (Figura 2A), 1 - 10 µg/ml de TF (Figura 2B), o 1 - 10 µg/ml de péptidos WT y TF combinados (Figura 2C) a 37°C durante 48 horas. El líquido sobrenadante del cultivo celular se recogió y se evaluó la producción de interleuquina-2 (IL-2) de las células T Jurkat por ELISA de IL-2. Los números que se muestran sobre cada barra en la figura 2 representan las concentraciones de IL-2. Como se muestra en la figura 2, la presencia del péptido TF, y los péptidos WT y TF combinados, producían un aumento en la concentración de IL-2, cuando se administraban junto con Fc de PD-L1.

La figura 3 muestra resultados de ensayos basados en células de tratamientos con péptidos WT, TF o WT y TF combinados que inhiben la interacción PD-1/PD-L1. En este ejemplo, se activaron 5x10⁴ células T Jurkat con 1 µg/ml de PHA y 50 ng/ml de PMA y se cocultivaron con 3x10⁵ células tumorales U87 que expresaban PD-L1 mezcladas con diferentes concentraciones de péptido WT (Figura 3A), TF (Figura 3B), o WT y TF combinados (Figura 3C) a 37°C durante 48 horas. Se recogieron los líquidos sobrenadantes del cultivo celular y se evaluó la producción de IL-2 de las células T Jurkat por ELISA de IL-2. Los números que se muestran sobre cada barra en las figuras 3A - 3C representan

las concentraciones de IL-2. Como se muestra en las figuras 3A - 3C, la presencia de péptido WT, péptido TF y los péptidos WT y TF combinados producía un aumento en la concentración de IL-2, cuando se administraban junto con Fc de PD-L1. Además, como se muestra en las figuras 3A - 3C, a medida que aumentaban las concentraciones de los péptidos de ensayo, y se observa un aumento en la concentración de IL-2.

- 5 Los resultados de los ensayos anteriores demuestran que tanto los péptidos WT como TF pueden bloquear la interacción PD-1/PD-L1. Además, cuando se combinan los péptidos WT y TF, se observa un efecto inhibitor mejorado (con respecto al tratamiento con un solo péptido de ensayo). Para mejorar la afinidad de unión del péptido WT, se sustituyó un solo aminoácido en cada posición del péptido WT y se examinaron las afinidades de unión de dichos péptidos derivados para PD-L1 mediante matrices de péptidos. Más en particular, los resultados de la matriz de
- 10 péptidos se generaron incubando membrana que contenía el péptido de ensayo derivado con 15 µg/ml de IgG humana de control negativo o Fc de PD-L1 humano recombinante a 4°C, durante la noche. Las señales resultantes se detectaron por anti-IgG humana conjugado con HRP y sustrato HRP. Refiriéndose ahora a la figura 4, cada punto mostrado en la misma representa una señal detectada de interacciones entre un péptido derivado de ensayo y Fc de PD-L1 humano, siendo la profundidad del color negro indicativa del nivel de afinidad de unión. Basándose en los
- 15 resultados de la matriz de péptidos en la figura 4, las siguientes secuencias de péptidos derivados se desarrollaron como alternativas al péptido WT:

SEQ ID. NO.	Sequence
3	WYRMSPSNQD
4	WYRMSPSNQE
5	WYRMSPSNDT
6	WYRMSPSNET
7	WYRMSPSEQT
8	WYRMSPDNQT
9	WYRMSPENQT
10	WYRMSPPNQT
11	WYRMSDSNQT
12	WYRMSESNQT
13	WYRMAPSNQT
14	WYRMQPSNQT
15	WYRMMPSNQT
16	WYRMPPSNQT
17	WYRDSPSNQT
18	WYRESPSNQT
19	WYIMSPSNQT
20	WYLMSPSNQT
21	WYYMSPSNQT
22	WYVMSPSNQT
23	DYRMSPSNQT
24	QYRMSPSNQT
25	EYRMSPSNQT

SEQ ID. NO.	Sequence
26	MYRMSPSNQT
27	TYRMSPSNQT
28	YYRMSPSNQT
29	WYRMSWSNQT
30	WYRMYPNQT
31	WYRNPSNQT
32	WYTMSPSNQT
34	TQNSPSMRYW
35	WNRLSPSNQT

La figura 5A muestra el bloqueo de la unión de PD-L1 a PD-1 por ciertos péptidos bloqueadores de PD-L1 (y ciertas combinaciones de los mismos). Más en particular, en este ejemplo y en relación con las figuras 5A y 5B, WT representa la SEQ ID NO: 1; TF representa SEQ ID NO: 2; ET representa la SEQ ID NO: 25; YT representa la SEQ ID NO: 28; y TW representa la secuencia inversa de WT con D-aminoácidos, SEQ ID NO: 34 (también denominada en la presente memoria "D-TW"). Se mezclaron diferentes combinaciones de dichos péptidos bloqueadores de PD-L1 (3 y 10 μ M) con Fc de PD-1 humano recombinante y se unieron a una placa de fondo plano Immuno Maxisorp de 96 pocillos recubierta con Fc de PD-L1 humano. La unión se detectó mediante un anticuerpo anti-PD-1 biotinilado, estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) y sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). Las mediciones de absorbancia se recogieron a 450 nm mediante un lector de placa. El porcentaje (%) aumentado de inhibición de PD-1/PD-L1 humana se comparó con una muestra a la que no se había proporcionado un péptido de ensayo. Los resultados se resumen en la figura 5A.

La figura 5B muestra resultados de ensayos basados en células, de diferentes tratamientos con péptidos bloqueadores de PD-L1 que inhiben la interacción PD-1/PD-L1. En este ejemplo, se activaron 5×10^4 células T Jurkat con 1 μ /ml de PHA y 50 ng/ml de PMA y se cocultivaron con 1×10^5 células tumorales que expresaban PD-L1 mezcladas con las diferentes combinaciones de péptidos bloqueadores de PD-L1 a 37°C durante 48 horas. Después se recogieron los líquidos sobrenadantes de cultivo celular y se evaluó la producción de IL-2 (de las células T Jurkat) por ELISA de IL-2. Como se muestra en las figuras 5A y 5B, los péptidos bloqueadores de PD-L1 de ensayo (y las combinaciones de los mismos ensayadas) presentaban inhibición de la interacción PD-1/PD-L1.

La figura 6 muestra que el bloqueo de PD-L1 mediante los péptidos combinados mencionados en la misma, mejora la citotoxicidad contra células tumorales. En este ejemplo, las células mononucleares de sangre periférica (PMBC) se estimularon con anticuerpo anti-CD3 (OKT-3) más IL-2 durante 24 horas y posteriormente se incubaron con bloqueadores de PD-L1/péptidos (los bloqueadores/péptidos mencionados en la figura 6) y células H460 marcadas con calceína-AM (carcinoma de pulmón de células grandes) durante 24 horas. Los líquidos sobrenadantes se recogieron después de incubación y luego se midió la fluorescencia de calceína-AM liberada mediante un lector de microplaca (emisión 485, excitación 525). El porcentaje de citotoxicidad (que se muestra en la figura 6) se calculó basándose en la siguiente fórmula: $[(\text{lectura de muestra} - \text{liberación mínima}) / (\text{liberación máxima} - \text{liberación mínima})] \times 100$. Como se muestra en la figura 6, los péptidos bloqueadores de PD-L1 de ensayo presentaban mayor citotoxicidad contra las células tumorales del sujeto (con respecto al control, "sin péptido"), y dicha actividad era particularmente destacada cuando dichos péptidos se administraban en 10 μ g/ml (frente a 3 μ g/ml).

En relación ahora a las figuras 7 y 8, en este ejemplo, las células Jurkat se privaron de alimento en medio exento de suero durante la noche. Las células se cultivaron posteriormente con diferentes combinaciones de los bloqueadores de PD-L1/péptidos (mencionados en las figuras 7 y 8) o medio solo en una placa de 96 pocillos recubierta previamente con un anticuerpo monoclonal anti-CD3 y Fc de PD-L1 a 37°C durante 10 minutos. Se añadió PBS frío a cada pocillo para detener la reacción y se prepararon lisados celulares para la transferencia con anticuerpos anti-SHP-2 fosforilada y anti-beta-actina. El nivel de expresión de SHP-2 fosforilada (un dominio SH2 citoplasmático que contiene proteína tirosina fosfatasa) se normalizó en función de la expresión de beta-actina, y el nivel de expresión relativo de SHP-2 fosforilada para los diferentes bloqueadores de PD-L1 se normalizó usando una muestra de medio solo. Como se muestra en las figuras 7 y 8, una mayoría de los bloqueadores de PD-L1/péptidos ensayados eran eficaces para aumentar el nivel de expresión relativo de SHP-2 fosforilada.

La figura 9A muestra los efectos de bloquear la unión de PD-L1 de ratón a PD1 de ratón. Más específicamente, se mezclaron los péptidos WT y TF de ratón y humano (3 y 10 μ M) con Fc de PD-1 de ratón recombinante y se unieron

a una placa de fondo plano Immuno Maxisorp de 96 pocillos recubiertos con Fc de PD-L1 de ratón. La unión se detectó mediante un anticuerpo anti-PD-1 de ratón biotinilado, estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) y sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). Las mediciones de absorbancia se recogieron a 450 nm mediante un lector de placa. El porcentaje (%) aumentado de inhibición de PD-1/PD L1 de ratón (y humano) se comparó con una muestra de control (sin péptido). Los resultados muestran la especificidad de los péptidos, específicamente, que los péptidos humanos no tienen los mismos efectos de bloqueo que los péptidos de ratón para PD-L1 de ratón. Las diferencias entre los péptidos humanos y de ratón se ilustran en la figura 9B.

La figura 10A muestra el bloqueo de la unión de PD-L1 a PD-1 por diferentes formas de péptidos bloqueadores de PD-L1. Más en particular, en este ejemplo y haciendo referencia a las figuras 10A y 10B, 3TF3ET representa tres copias de TF (SEQ ID NO: 2) unidas a un conector seguido de tres copias de ET (SEQ ID NO: 25); 3ET3TF representa tres copias del péptido ET unidas a un conector seguido de tres copias del péptido TF; y TF-Fc representa TF unido a una región de fragmento cristalizable (Fc) de IgG4 humana. Las células 293FT se infectaron con vector vírico que codifica el péptido bloqueador de PD-L1 durante 48 horas. Cada péptido (o combinación de péptidos) se expresó y secretó de las células infectadas (el péptido o combinación de péptidos se secretó a través de un péptido señal 5' fusionado). Los líquidos sobrenadantes que contenían el péptido bloqueador de PD-L1 recogidos de células 293FT infectadas o el péptido TF sintético se mezclaron con Fc de PD-1 humano recombinante y se unieron a una placa de fondo plano Immuno Maxisorp de 96 pocillos recubiertos con Fc de PD-L1 humano. La unión se detectó mediante un anticuerpo anti-PD-1 biotinilado, estreptavidina, peroxidasa de rábano picante (HRP) y sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). Las mediciones de absorbancia se recogieron a 450 nm mediante un lector de placa. El porcentaje (%) aumentado de inhibición de PD-1/PD-L1 humano se comparó con una muestra de control (sin péptido).

La figura 10B muestra resultados de ensayos basados en células de diferentes formas de tratamiento con péptidos bloqueadores de PD-L1 que inhiben la interacción PD-1/PD-L1. Se activaron 5 x 10⁴ células T Jurkat con 1 µ/ml de PHA y 50 ng/ml de PMA y se cocultivaron con 1 x 10⁵ células tumorales que expresaban PD-L1 mezcladas con líquidos sobrenadantes que contenían péptidos bloqueadores de PD-L1 o péptido TF sintético a 37°C durante 48 horas. Después de 48 horas, se recogieron los líquidos sobrenadantes del cultivo celular y se evaluó la producción de IL-2 a partir de las células T Jurkat por ELISA de IL-2.

La figura 11 muestra los resultados de un experimento in vivo, que muestra los efectos de D-TW en ratones que albergan la línea de células tumorales LL/2. Más en particular, se inoculó en ratones de cepa C57B1/6 (macho, 4 semanas, peso corporal inicial ~20 - 22 g) la línea de células tumorales LL/2, por vía S.C. 105 por ratón. Tras 14 días después de la implantación, los ratones se trataron con D-TW o D-TW-desordenado durante 7 días (con 200 mg/kg), por inyección intraperitoneal (IP). La figura 12 muestra los efectos de D-TW en el tamaño del tumor en los ratones a los que se hace referencia en la figura 11. Como se muestra en la figura 12, se encontró que el péptido D-TW en general no es tóxico para la cepa de ratones C57B1/6. Además, los resultados muestran que la inoculación del péptido D-TW (con 200 mg/kg) era eficaz para inhibir significativamente el crecimiento tumoral (con respecto al control y con respecto al péptido D-TW-desordenado).

Listado de secuencias

<110> Jia, William

<120> COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA INHIBIR LAS INTERACCIONES CD279

<130> 01240002

<160> 36

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintetizado

<400> 1

Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
1				5					10

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 764 663 T3

<220>
 <223> Sintetizado

5 <400> 2
 Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Ser Ala Gly Gln Phe
 1 5 10

<210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintetizado

15 <400> 3
 Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Asp
 1 5 10

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

<220>
 <223> Sintetizado

25 <400> 4
 Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Glu
 1 5 10

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

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 5
 Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Asp Thr
 1 5 10

<210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 6
 Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Glu Thr
 1 5 10

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

<220>
 <223> Sintetizado

60 <400> 7
 Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Glu Gln Thr
 1 5 10

ES 2 764 663 T3

5	<210> 8 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					
	<220> <223> Sintetizado																					
10	<400> 8	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Trp</th> <th style="text-align: left;">Tyr</th> <th style="text-align: left;">Arg</th> <th style="text-align: left;">Met</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Pro</th> <th style="text-align: left;">Asp</th> <th style="text-align: left;">Asn</th> <th style="text-align: left;">Gln</th> <th style="text-align: left;">Thr</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Asp	Asn	Gln	Thr	1				5					10
Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Asp	Asn	Gln	Thr													
1				5					10													
	<210> 9 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					
15																						
	<220> <223> Sintetizado																					
20	<400> 9	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Trp</th> <th style="text-align: left;">Tyr</th> <th style="text-align: left;">Arg</th> <th style="text-align: left;">Met</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Pro</th> <th style="text-align: left;">Glu</th> <th style="text-align: left;">Asn</th> <th style="text-align: left;">Gln</th> <th style="text-align: left;">Thr</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Glu	Asn	Gln	Thr	1				5					10
Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Glu	Asn	Gln	Thr													
1				5					10													
	<210> 10 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					
25																						
	<220> <223> Sintetizado																					
30	<400> 10	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Trp</th> <th style="text-align: left;">Tyr</th> <th style="text-align: left;">Arg</th> <th style="text-align: left;">Met</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Pro</th> <th style="text-align: left;">Pro</th> <th style="text-align: left;">Asn</th> <th style="text-align: left;">Gln</th> <th style="text-align: left;">Thr</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Pro	Asn	Gln	Thr	1				5					10
Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Pro	Asn	Gln	Thr													
1				5					10													
	<210> 11 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					
35																						
	<220> <223> Sintetizado																					
40	<400> 11	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Trp</th> <th style="text-align: left;">Tyr</th> <th style="text-align: left;">Arg</th> <th style="text-align: left;">Met</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Asp</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Asn</th> <th style="text-align: left;">Gln</th> <th style="text-align: left;">Thr</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Asp	Ser	Asn	Gln	Thr	1				5					10
Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Asp	Ser	Asn	Gln	Thr													
1				5					10													
	<210> 12 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					
45																						
	<220> <223> Sintetizado																					
50	<400> 12	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Trp</th> <th style="text-align: left;">Tyr</th> <th style="text-align: left;">Arg</th> <th style="text-align: left;">Met</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Glu</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Asn</th> <th style="text-align: left;">Gln</th> <th style="text-align: left;">Thr</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Glu	Ser	Asn	Gln	Thr	1				5					10
Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Glu	Ser	Asn	Gln	Thr													
1				5					10													
	<210> 13 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					
55																						
	<220> <223> Sintetizado																					
60	<400> 13	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Trp</th> <th style="text-align: left;">Tyr</th> <th style="text-align: left;">Arg</th> <th style="text-align: left;">Met</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Glu</th> <th style="text-align: left;">Ser</th> <th style="text-align: left;">Asn</th> <th style="text-align: left;">Gln</th> <th style="text-align: left;">Thr</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Glu	Ser	Asn	Gln	Thr	1				5					10
Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Glu	Ser	Asn	Gln	Thr													
1				5					10													
	<210> 13 <211> 10 <212> PRT <213> Secuencia artificial																					

ES 2 764 663 T3

<220>
 <223> Sintetizado

 <400> 13
 5 Trp Tyr Arg Met Ala Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10

 <210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintetizado

 15 <400> 14
 Trp Tyr Arg Met Gln Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10

 <210> 15
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Sintetizado

 25 <400> 15
 Trp Tyr Arg Met Met Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10

 <210> 16
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 35 <223> Sintetizado

 <400> 16
 Trp Tyr Arg Met Pro Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10

 40 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 45 <220>
 <223> Sintetizado

 <400> 17
 Trp Tyr Arg Asp Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10

 50 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 55 <220>
 <223> Sintetizado

 <400> 18
 60 Trp Tyr Arg Glu Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10

ES 2 764 663 T3

<210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Sintetizado
 <400> 19
 Trp Tyr Ile Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 10 1 5 10
 <210> 20
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintetizado
 20 <400> 20
 Trp Tyr Leu Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10
 <210> 21
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintetizado
 30 <400> 21
 Trp Tyr Tyr Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10
 <210> 22
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Sintetizado
 <400> 22
 Trp Tyr Val Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 1 5 10
 45 <210> 23
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Sintetizado
 <400> 23
 Asp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr
 55 1 5 10
 <210> 24
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>

ES 2 764 663 T3

<223> Sintetizado

<400> 24

	Gln	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
5	1				5					10

<210> 25
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 25

	Glu	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
15	1				5					10

<210> 26
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 26

	Met	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
25	1				5					10

<210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 27

	Thr	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
35	1				5					10

<210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 28

	Tyr	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
45	1				5					10

<210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50

<220>
 <223> Sintetizado

<400> 29

	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Trp	Ser	Asn	Gln	Thr
60	1				5					10

<210> 30

ES 2 764 663 T3

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

5 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 30

	Trp	Tyr	Arg	Met	Tyr	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
	1				5					10

10 <210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 31

	Trp	Tyr	Arg	Asn	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
	1				5					10

20 <210> 32
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Sintetizado

30 <400> 32

	Trp	Tyr	Thr	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr
	1				5					10

35 <210> 33
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 33

	Phe	Gln	Gly	Ala	Ser	Arg	Pro	Ser	Pro	Ser	Pro	His	Ala	Thr
	1				5					10				

45 <210> 34
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Sintetizado

<400> 34

	Thr	Gln	Asn	Ser	Pro	Ser	Met	Arg	Tyr	Trp
	1				5					10

55 <210> 35
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Sintetizado

ES 2 764 663 T3

<400> 35

Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr
1 5 10

5

<210> 36

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Sintetizado

<400> 36

Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro Lys Pro Glu Gly Arg Phe
1 5 10

15

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 36.
- 5 2. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido consiste en una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 28 y SEQ ID NO: 34.
3. Una composición de calidad farmacéutica que comprende el péptido de la reivindicación 2.
4. El péptido de la reivindicación 2, en donde el péptido está unido a una región de fragmento cristizable (Fc) de un anticuerpo, opcionalmente en donde el péptido se formula para ser administrado a un mamífero por inyección tisular local, inyección intravenosa o inyección intraperitoneal.
- 10 5. El péptido de la reivindicación 2, en donde el péptido es codificado por un vector vírico o no vírico y secretado a un espacio extracelular.
6. El péptido de la reivindicación 2, en donde el péptido se formula (a) para ser administrado a un mamífero para generar una respuesta inmunitaria dentro de dicho mamífero y (b) para generar anticuerpos contra PD-L1.
- 15 7. Un método in vitro para inhibir la interacción entre PD-1 y PD-L1 en una célula por administración de uno o más péptidos según la reivindicación 1 a dicha célula.
8. El método de la reivindicación 7, en donde cada uno de dichos péptidos consiste en una secuencia de aminoácidos que se selecciona de los péptidos de la reivindicación 2.
9. El método de la reivindicación 8, en donde el péptido está comprendido dentro de una composición de calidad farmacéutica.
- 20 10. El método de la reivindicación 9, en donde el péptido se formula para ser administrado a un mamífero por inyección tisular local, inyección intravenosa o inyección intraperitoneal.
11. El método de la reivindicación 8, en donde el péptido es codificado por un vector vírico o no vírico y secretado a un espacio extracelular.
- 25 12. Un péptido según la reivindicación 1, para usar en la prevención, tratamiento o mejora de los efectos del cáncer en un sujeto por administración de uno o más de dichos péptidos al sujeto.
13. El péptido para usar según la reivindicación 12, en donde cada uno de dichos péptidos consiste en una secuencia de aminoácidos que se selecciona de los péptidos de la reivindicación 2.
- 30 14. El péptido para usar según la reivindicación 13, en donde el péptido está comprendido dentro de una composición de calidad farmacéutica, opcionalmente en donde el péptido se formula para ser administrado a un mamífero por inyección tisular local, inyección intravenosa o inyección intraperitoneal.
15. El péptido para usar según la reivindicación 13, en donde el péptido es codificado por un vector vírico o no vírico y secretado a un espacio extracelular.

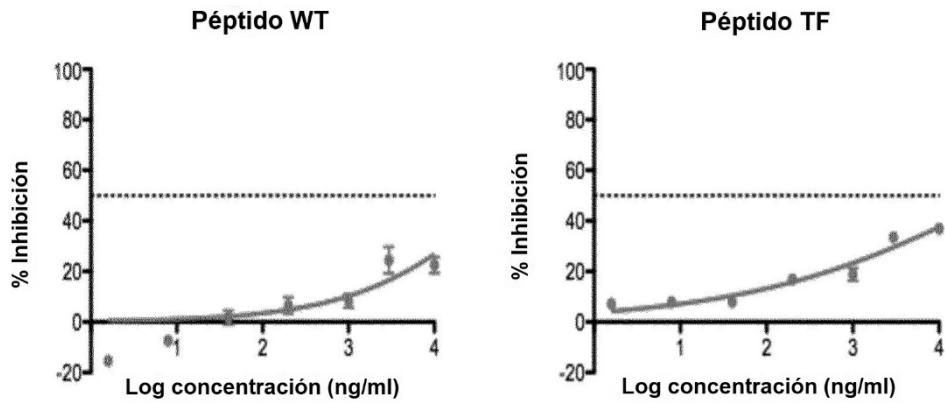


FIGURA 1

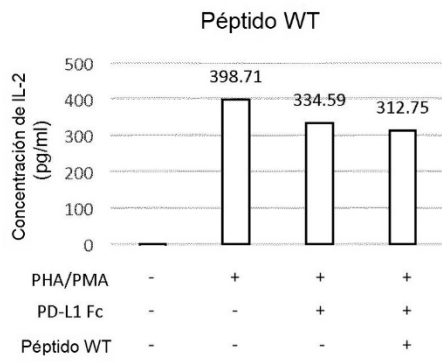


FIGURA 2A

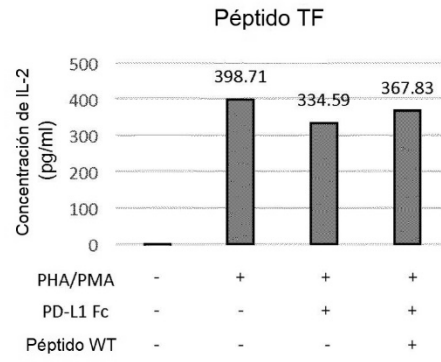


FIGURA 2B

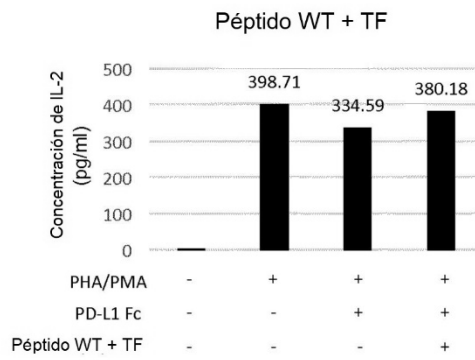


FIGURA 2C

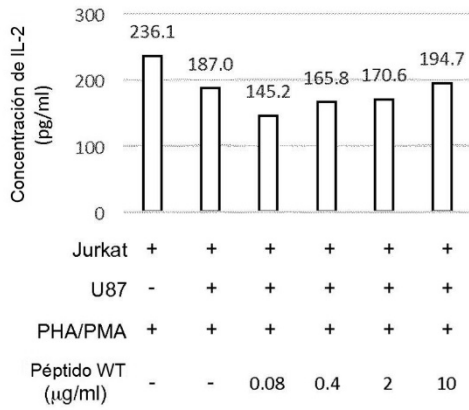


FIGURA 3A

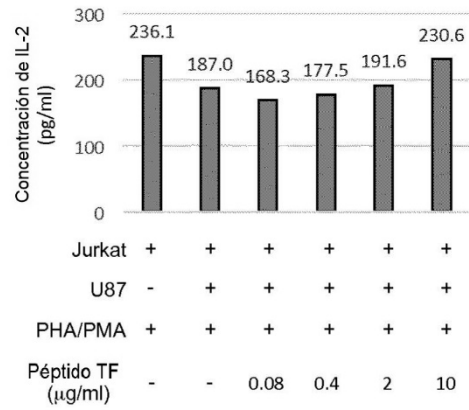


FIGURA 3B

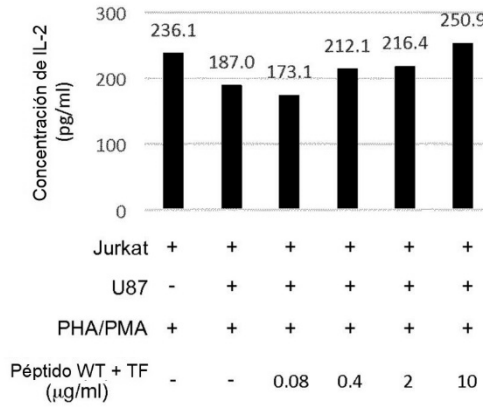
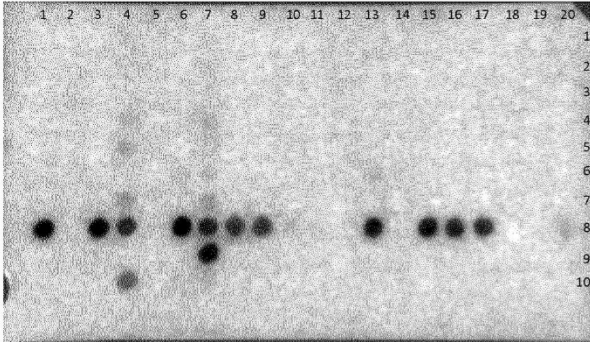


FIGURA 3C

IgG humana + anti-IgG humana HRP (control negativo)



Fc de PD-L1 + anti-IgG humana HRP

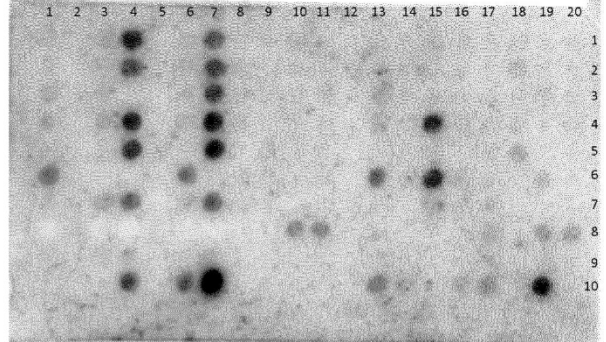


FIGURA 4

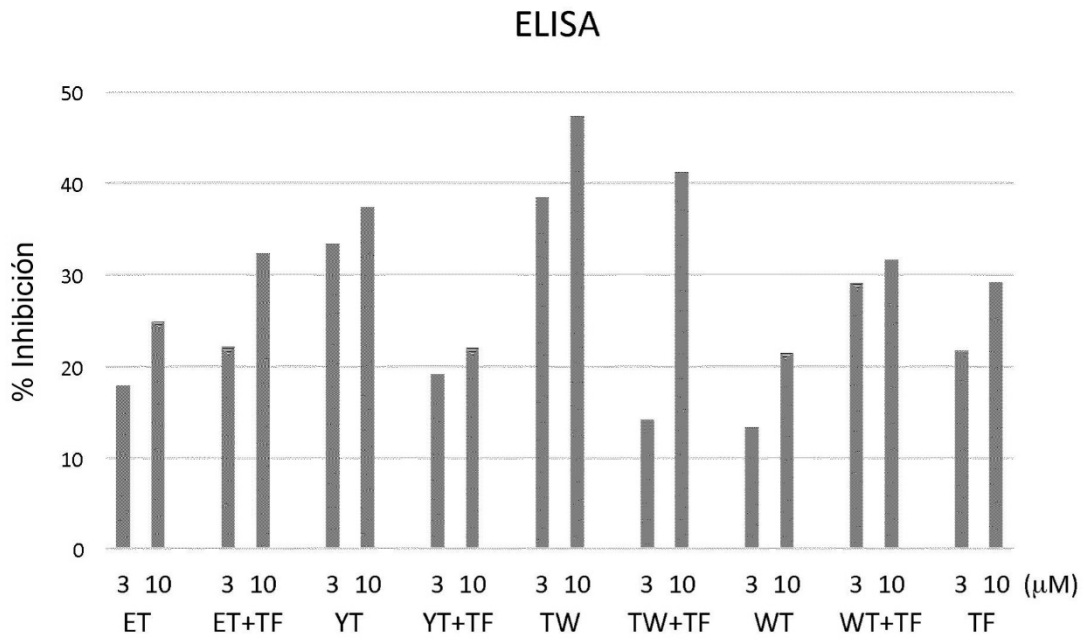


FIGURA 5A

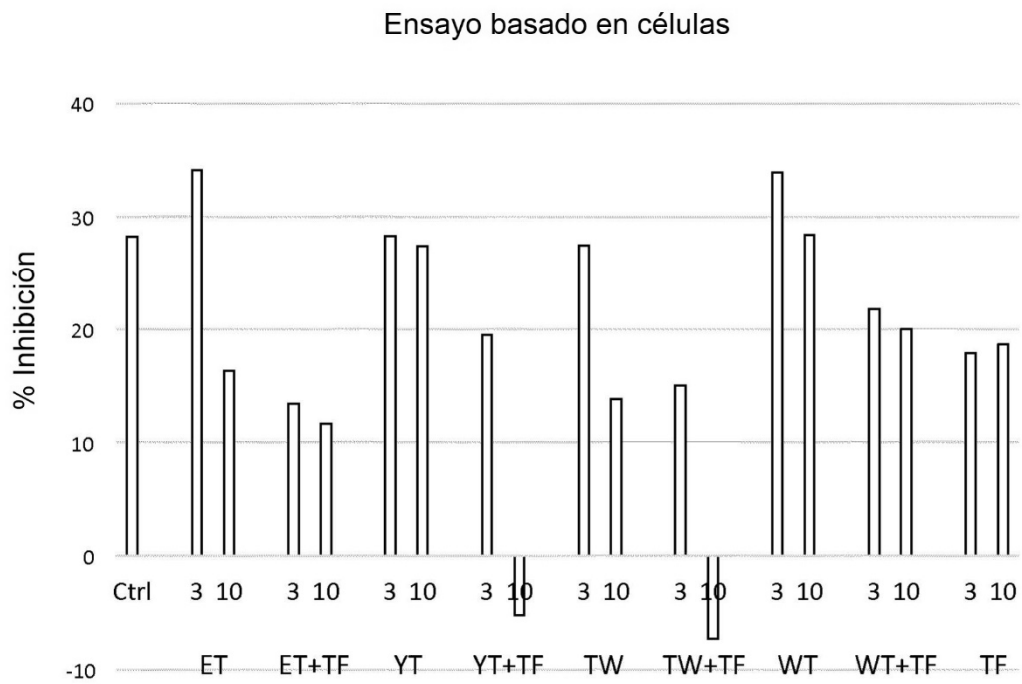


FIGURA 5B

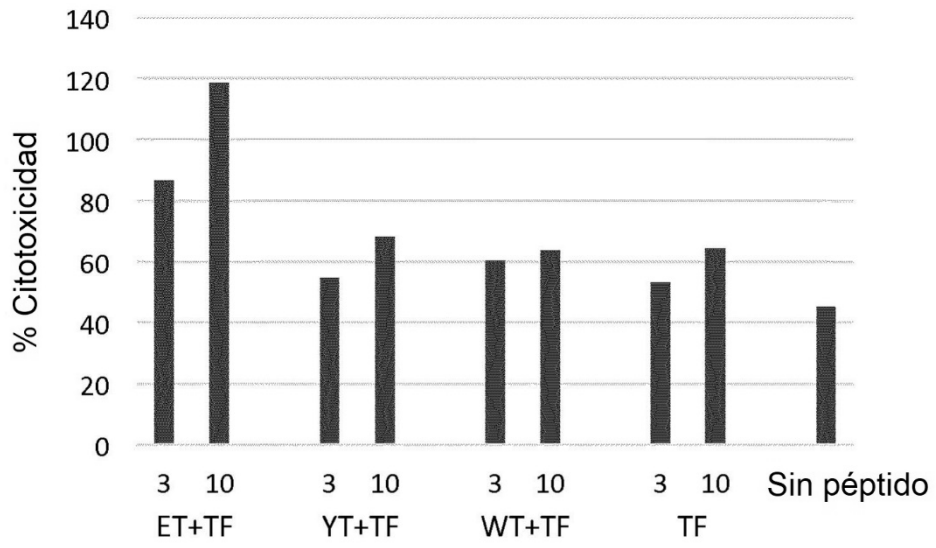


FIGURA 6

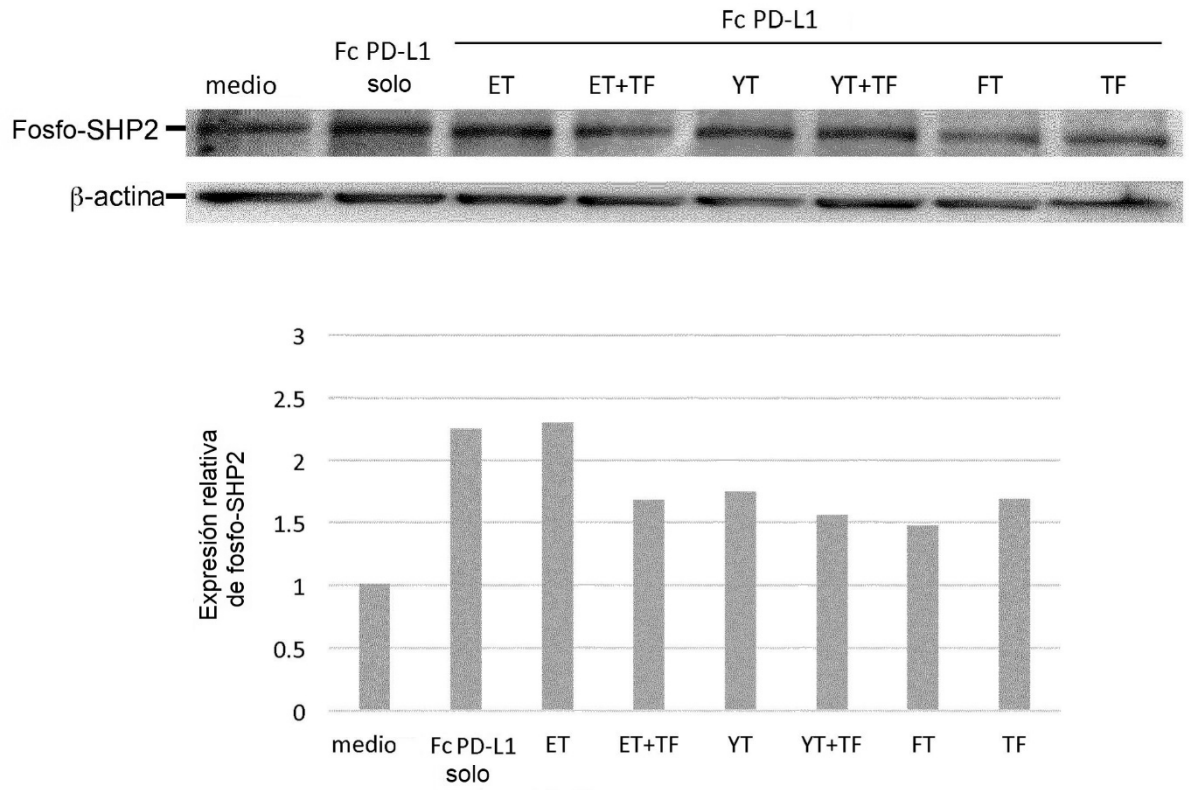


FIGURA 7

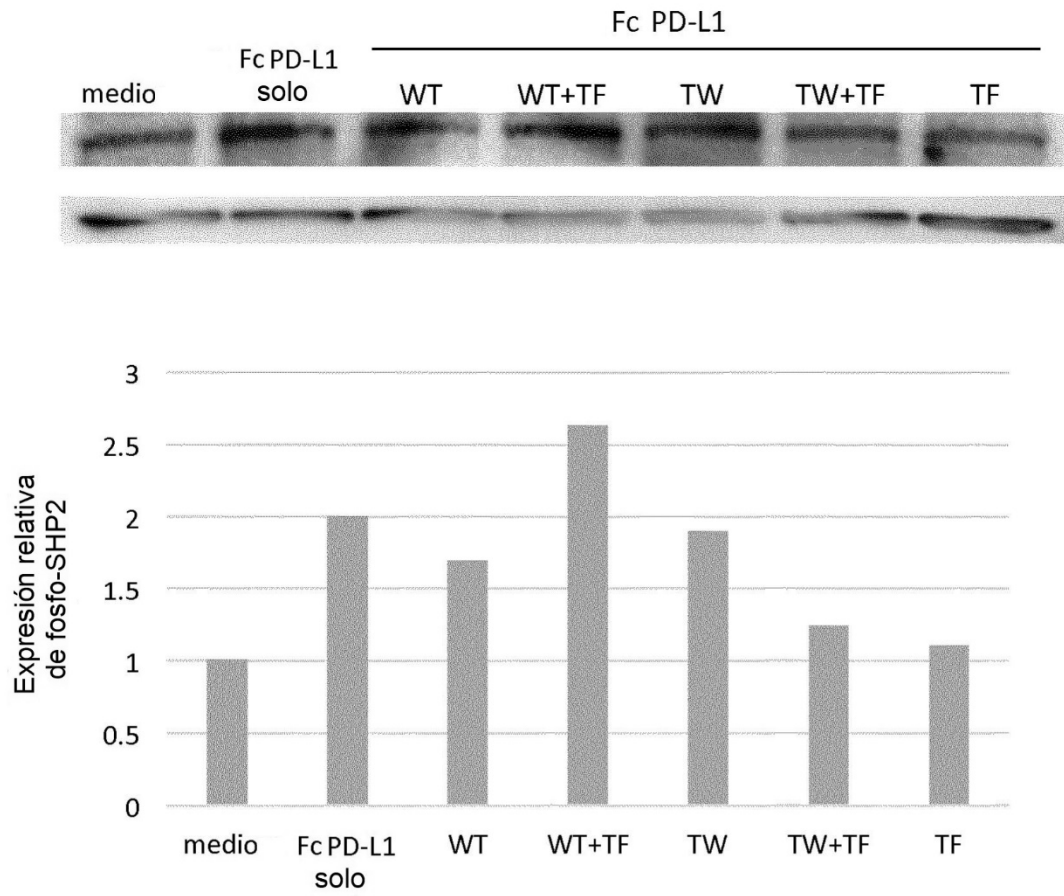


FIGURA 8

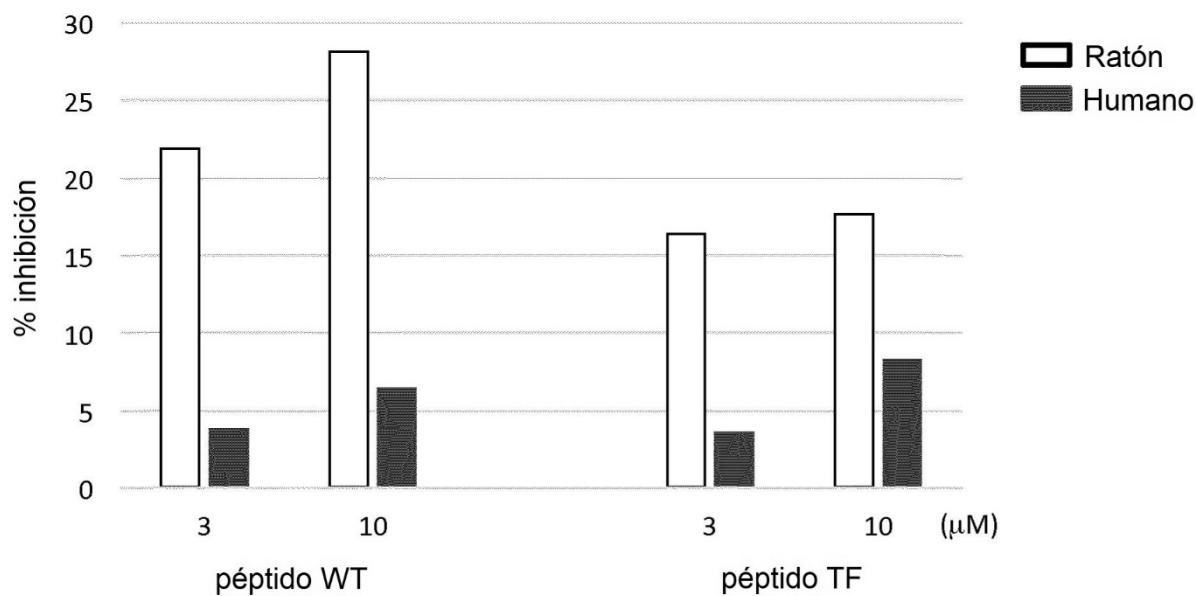


FIGURA 9A

Péptido WT humano: WYRMSPSNQT (SEQ ID NO:1)
 Péptido WT de ratón: WNRLSPSNQT (SEQ ID NO:35)

Péptido TF humano: TAHPSPSPRSAGQF (SEQ ID NO:2)
 Péptido TF de ratón: TRYPSPSPKPEGRF (SEQ ID NO:36)

(Los aminoácidos subrayados representan las diferencias entre humano y de ratón)

FIGURA 9B

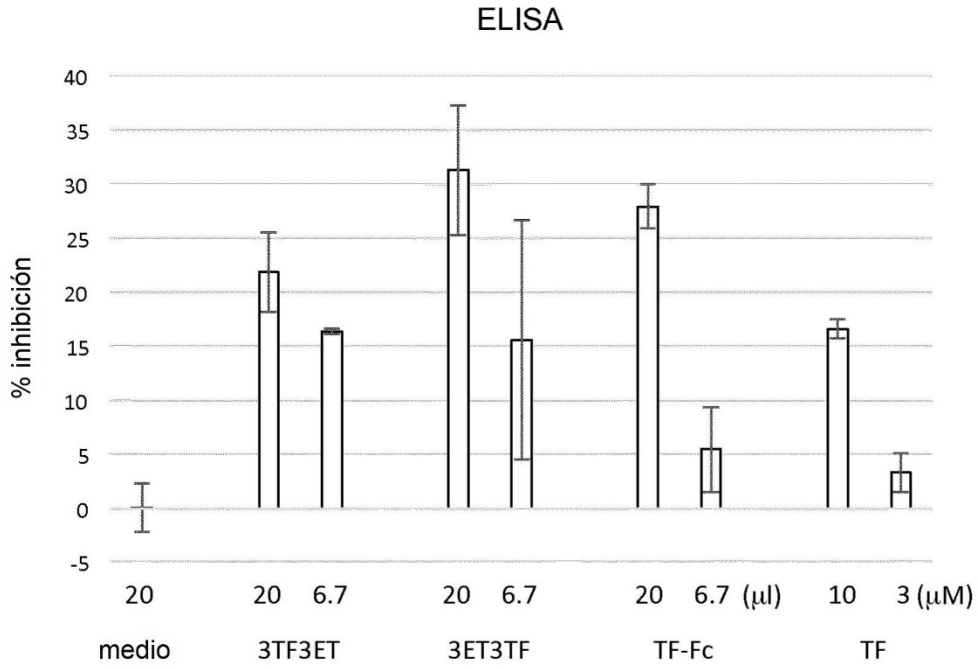


FIGURA 10A

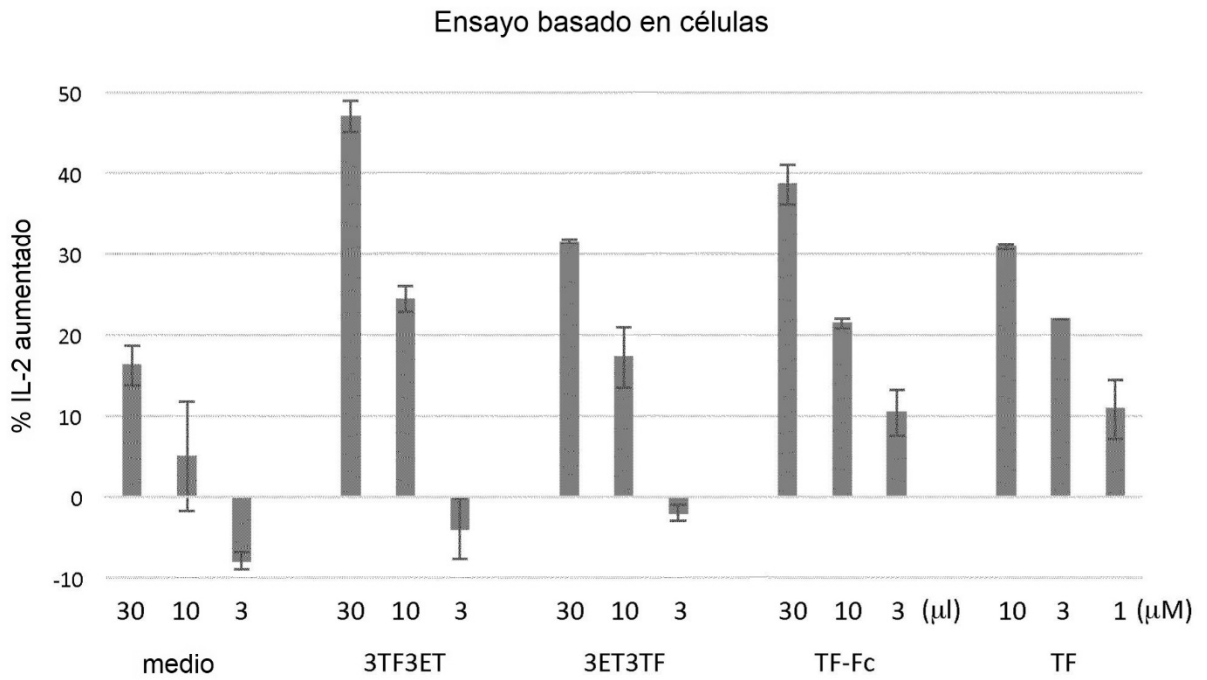


FIGURA 10B

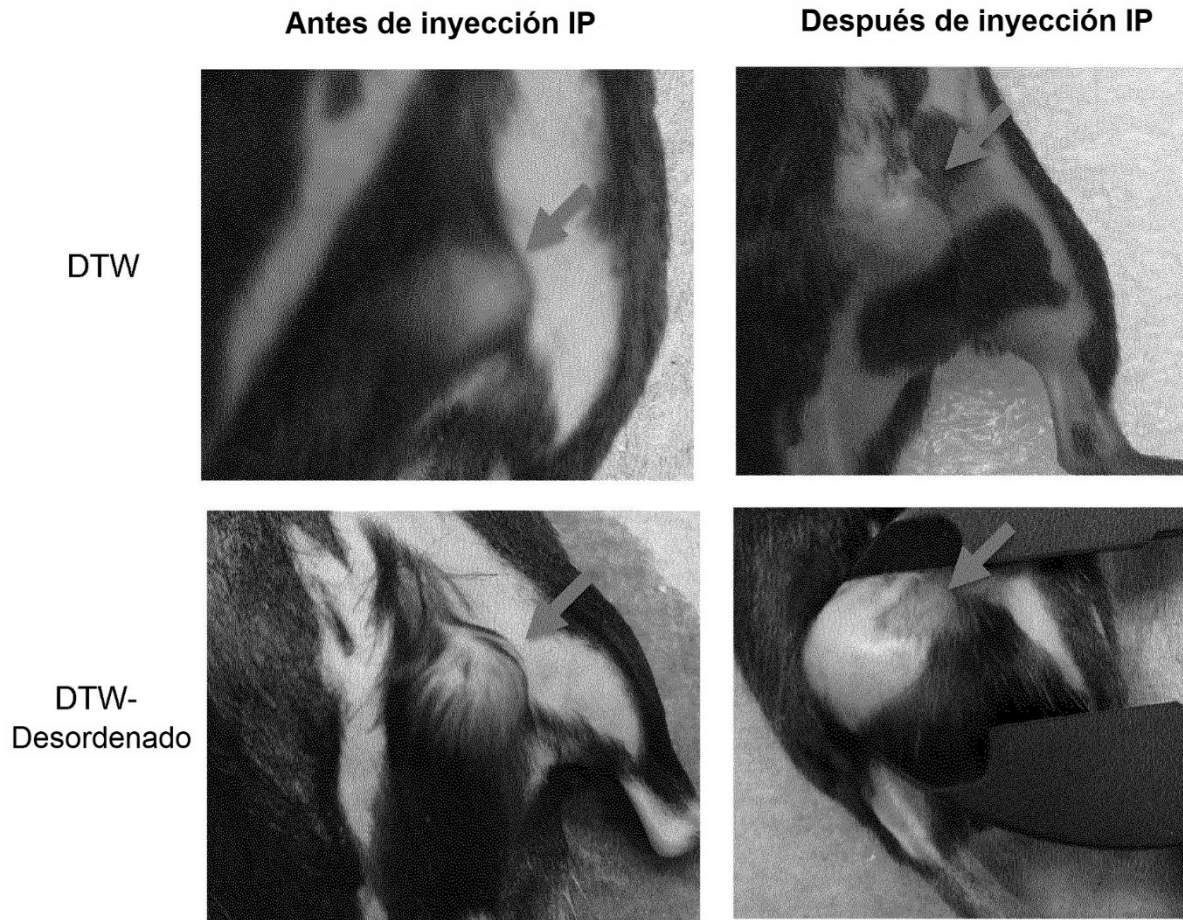


FIGURA 11

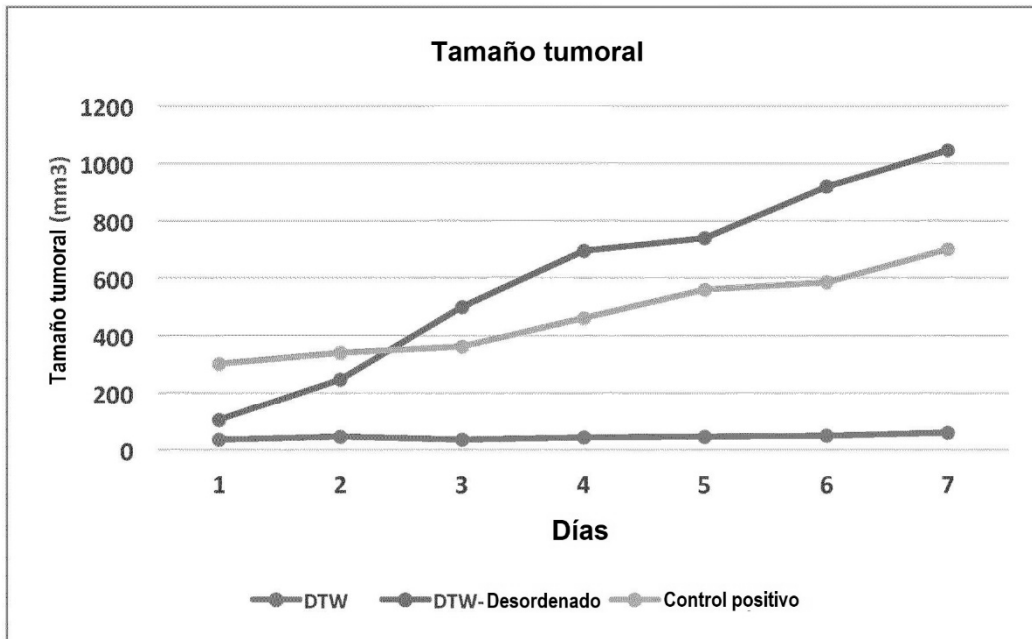


FIGURA 12