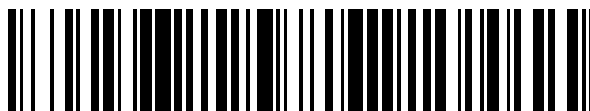


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 797 048**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

C07K 14/195 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2015** **PCT/EP2015/074644**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.04.2016** **WO16062874**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2015** **E 15786908 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020** **EP 3209318**

54 Título: **Composiciones para administración por vía oral que comprende una variante de una proteína de pliegue OB**

30 Prioridad:

24.10.2014 FR 1460226

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

01.12.2020

73 Titular/es:

AFFILOGIC (100.0%)
"bio Ouest", 21 rue la Noue Bras de Fer
44200 Nantes, FR

72 Inventor/es:

KITTEN, OLIVIER

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 797 048 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 para administración por vía oral que comprende una variante de una proteína de pliegue OB

- 5 La invención se refiere al campo de la preparación de composiciones orales para un uso terapéutico, que contienen unos principios activos que se unen a dianas de interés.

Existe un cierto número de enfermedades del sistema gastrointestinal. A fin de tratar estas enfermedades, es deseable poder disponer de composiciones que actúan directamente en el sitio de la enfermedad.

- 10 Para hacer esto, es posible desarrollar unas composiciones por vía rectal, pero las composiciones por vía oral son las preferidas de los pacientes y permiten un mejor cumplimiento del tratamiento. Por otro lado, e incluso para tratar las enfermedades sistémicas (no localizadas en el sistema gastrointestinal), se prefiere la administración por vía oral, en la medida de lo posible, a los otros modos de administración (y especialmente las inyecciones), que pueden requerir la implicación de miembros del personal sanitario.

- 15 Sea cual sea la enfermedad, existe generalmente una diana de interés terapéutico sobre la cual los medicamentos son activos. Puede ser un receptor celular, o una proteína de superficie de un microorganismo. De manera general, parece deseable disponer de composiciones que permiten la aplicación de principios activos que actúan sobre las dianas de interés terapéutico directamente sobre su sitio de acción. Sin embargo, algunas proteínas, como los anticuerpos, se degradan durante el paso por el estómago.

- 20 La solicitud WO 2007/139397 describe la utilización de bancos de proteínas de pliegue OB en los que se modifica el dominio OB por la introducción de mutaciones en el campo de unión de la proteína a su ligando natural.

- 25 La solicitud WO 2008/068637 describe la utilización de un banco basado en la proteína Sac7d para obtener unos ligandos que presentan una afinidad para unas dianas de interés. El método descrito en el documento WO 2008/068637 comprende la generación de bancos combinatorios que contienen una pluralidad de moléculas de ADN que tienen todas la misma secuencia, salvo la presencia de algunas mutaciones aleatorias que llevan a la producción de variantes de una proteína salvaje, que presentan unas mutaciones en algunos aminoácidos del sitio de unión de esta proteína de pliegue OB salvaje. En particular, en el ámbito del documento WO 2008/068637, la proteína de pliegue OB salvaje es una proteína Sac7d, en la que se introducen unas mutaciones para generar una variabilidad, especialmente en los aminoácidos seleccionados entre K7, Y8, K9, K21, K22, W24, V26, M29, S31, T33, T40, R42, A44, S46, o en otros aminoácidos, como V26, G27, K28, M29, S31, R42, A44, S46, E47 y K48. Estos aminoácidos se basan en la secuencia de Sac7d, tal como se representa por la SEQ ID nº 1.

- 30 La solicitud de patente WO 2012/150314 presenta la portabilidad de mutaciones de una proteína de la familia Sac7d hacia otra proteína de la misma familia. Esta portabilidad vuelve a crear un mutante de otra proteína de la familia Sac7d a partir de un mutante de una proteína de dicha familia, que se ha podido obtener especialmente utilizando el procedimiento del documento WO 2008/068637.

- 35 La familia Sac7d se define como relacionada con la familia Sac7d y corresponde a una familia de proteínas de 7 kDa de unión al ADN aisladas de bacterias extremófilas. Estas proteínas y esta familia se describen especialmente en el documento WO 2008/068637. Así, en el ámbito de la presente invención, una proteína pertenece a la familia Sac7d cuando presenta una secuencia que corresponde a la secuencia SEQ ID nº 8. Esta familia comprende especialmente las proteínas Sac7d o Sac7e procedentes de *Sulfolobus acidocaldarius*, Sso7d procedente de *Sulfolobus solfataricus*, DBP 7 procedente de *Sulfolobus tokodaii*, Ssh7b procedente de *Sulfolobus shibatae*, Ssh7a procedente de *Sulfolobus shibatae*, y p7ss procedente de *Sulfolobus solfataricus*.

- 40 Las proteínas de pliegue OB son conocidas en la técnica. Se describen especialmente en los documentos citados anteriormente, así como en Arcus (Curr Opin Struct Biol. diciembre de 2002;12(6):794-801). El pliegue OB se presenta en forma de un cilindro que presenta cinco láminas beta (β). La mayoría de las proteínas de pliegue OB utilizan la misma interfaz de unión que su ligando natural, que puede ser un oligosacárido, un oligonucleótido, una proteína, un ión metálico o un sustrato catálico. Esta interfaz de unión comprende principalmente los restos situados en las láminas beta. Algunos restos situados en los bucles pueden también estar implicados en la unión de una proteína de pliegue OB con su ligando natural. Así, las solicitudes WO 2007/139397 y WO 2008/068637 y el documento Arcus (2002, *op. cit.*) describen los campos de unión de las proteínas de pliegue OB con su ligando natural. Así, el documento WO 2008/068637 describe precisamente la manera de identificar el campo de unión de una proteína de pliegue OB.

- 45 Superponiendo varias secuencias y estructuras 3D de proteínas que presentan unos dominios de pliegue OB utilizando los sitios Web WU-Blast2 (<http://www.ebi.ac.uk/blast2/index.html>) (Lopez *et al.*, 2003, Nucleic Acids Res 31, 3795-3798), T-COFFEE (<http://www.ch.embnet.org/software/TCoffee.html>) (Notredame *et al.*, 2000, J Mol Biol 302, 205-217) y DALI lite (<http://www.ebi.ac.uk/DaliLite/>) (Holm y Park, 2000, Bioinformatics 16, 566-567) se pueden identificar las posiciones de los campos de unión y especialmente los aminoácidos que se pueden modificar. Tomando como referencia la secuencia de Sac7d (SEQ ID nº1), se trata de los restos V2, K3, K5, K7, Y8, K9, G10, E11, K13, E14,

T17, K21, K22, W24, V26, G27, K28, M29, S31, T33, Y34, D36, N37, G38, K39, T40, R42, A44, S46, E47, K48, D49, A50 y P51.

Siempre con esta secuencia Sac7d como referencia, los restos que se pueden suprimir son: A59, R60, A61, E64 y/o K66.

Puede efectuarse la identificación de los campos de unión de otras proteínas de pliegue OB, así como se describe en el documento WO 2008/068637. Esta solicitud describe que se puede efectuar una superposición de estructuras 3D de proteínas o dominios de pliegue OB (10 dominios se utilizaron en esta solicitud, incluyendo Sac7d), utilizando la página web DALI (<http://www.ebi.ac.uk/dali/Interactive.html>) (Holm y Sander, 1998, Nucleic Acids Res 26, 316-319). Así, es fácil identificar, para cualquier proteína (o cualquier dominio) de pliegue OB, los aminoácidos implicados en el sitio de unión y que corresponden a los aminoácidos de Sac7d mencionados anteriormente.

La enseñanza del documento WO 2008/068637 indica también que se pueden insertar eventualmente unos aminoácidos en los bucles de pliegue OB, especialmente las proteínas de la familia Sac7d, en particular pueden efectuarse unas inserciones de 1 a 15 restos de aminoácidos en el bucle 3 (tal como se define en las figuras 1b y 2 del documento WO 2008/068637), por ejemplo en la región de los restos 25 a 30 de Sac7d, preferentemente los restos 27 y 28, pueden efectuarse unas inserciones de 1 a 15 restos de aminoácidos en el bucle 4 (tal como se ha definido en las figuras 1b y 2 del documento WO 2008/068637), por ejemplo en la región de los restos 35-40 de Sac7d, preferentemente entre los restos 37 y 38, y pueden efectuarse unas inserciones de 1 a 20 restos en el bucle 1 (tal como se define en las figuras 1b y 2 del documento WO 2008/068637), por ejemplo en la región de los restos 7 a 12 de Sac7d, preferentemente entre los restos 9 y 10.

Por extensión, en el ámbito de la presente solicitud, el término "proteína de pliegue OB" comprende las proteínas de pliegue OB naturales, pero también los dominios que presentan un pliegue OB que se puede aislar de proteínas más complejas. Estos dominios de pliegue OB se describen especialmente más en detalle en las solicitudes WO 2007/139397 y WO 2008/068637. Este término comprende también los polipéptidos que se pueden obtener fusionando, por ingeniería genética, en N o C-terminal, una proteína de pliegue OB o un dominio que presenta un pliegue OB a una proteína o un dominio de interés, por ejemplo una etiqueta que permite una mejor purificación.

El interés del método descrito en el documento WO 2008/068637 es que permite obtener unas variantes de proteínas de pliegue OB por cribado de bancos combinatorios que contienen o que expresan una pluralidad de variantes en las que un cierto número de aminoácidos se han "aleatorizado", es decir sustituidos por un aminoácido aleatorio. El cribado de estos bancos permite identificar unas variantes de estas proteínas que se unen de manera específica, generalmente con una fuerte afinidad (la solicitud WO 2008/068637 describe, en efecto, unas afinidades del orden nanomolar), con una diana de interés, diferente del ligando natural de la proteína salvaje a partir de la cual se ha generado el banco combinatorio.

Los inventores han mostrado que las proteínas de pliegue OB son suficientemente resistentes a la degradación gástrica, y pueden permanecer en el intestino o atravesar la barrera del intestino y, por lo tanto, utilizarse en composiciones utilizables por vía oral para el tratamiento de diversas enfermedades, especialmente localizadas en el intestino, o en otros órganos del cuerpo, después del paso por la circulación sistémica. Se utiliza preferentemente una variante de una proteína de pliegue OB, que se une a una diana de interés, estando dicha diana de interés implicada en una patología, especialmente del sistema gastrointestinal o una patología sistémica (es decir una patología localizada en un órgano diferente del sistema gastrointestinal).

La presente invención se refiere así a una composición para una utilización terapéutica o diagnóstica por administración por vía oral que comprende una proteína de pliegue OB o una variante de una proteína salvaje de pliegue OB, presentando dicha variante entre 5 y 32 restos mutados en la interfaz de unión de dicha proteína salvaje de pliegue OB a su ligando natural.

En un modo de realización particular, dicha variante presente una actividad terapéutica. En particular, dicha variante se une de manera específica a una diana de interés diferente de la diana de dicho ligando natural. Esta variante puede entonces haberse identificado mediante la utilización de un método tal como se describe en el documento WO 2008/068637 o WO 2007/139397. Así, la utilización de los métodos descritos en estas dos solicitudes de patente permite generalmente identificar unas variantes de cualquier proteína de pliegue OB que se une a cualquier diana de interés. Esta composición contiene también generalmente un excipiente utilizable para tal administración por vía oral, y farmacéuticamente aceptable.

Así como se ha observado antes, dicha proteína salvaje de pliegue OB engloba también los dominios de pliegue OB. De manera preferida, la variante utilizada en el ámbito de la presente invención contiene como máximo 300 aminoácidos, preferentemente como máximo 200 aminoácidos, preferentemente como máximo 175 aminoácidos, de manera más preferida como máximo 150 aminoácidos, de manera más preferida como máximo 100 aminoácidos. En un modo de realización particular, contiene como máximo 80 o como máximo 70 aminoácidos.

El número de restos mutados en dicha variante (con respecto a la proteína salvaje) está comprendido entre 5 y 32. En otros modos de realización, estas variantes presentan preferentemente al menos 5, de manera más preferida al menos 8, de manera aún más preferida al menos 10, pero generalmente menos de 32, de manera más preferida menos de 24, de manera aún más preferida menos de 20 o menos de 15 aminoácidos sustituidos con respecto a la proteína (o al dominio) de pliegue OB salvaje. Se prefiere, cuando 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 aminoácidos se mutan con respecto a la proteína salvaje. Estos aminoácidos mutados se localizan en el sitio de unión de la proteína de pliegue OB con su ligando natural. Están generalmente repartidos sobre el conjunto de este campo de unión. Dándose la estructura de este campo de unión, algunos restos mutados se encuentran en una (generalmente varias, especialmente dos o tres) láminas beta.

En un modo de realización particular, estas variantes pueden también comprender unas inserciones de aminoácidos en bucles que unen las láminas beta del pliegue OB. Así, se pueden introducir entre 1 y 15 aminoácidos en el bucle 1 y/o en el bucle 4 y/o en el bucle 3 (enumerándose los bucles de la misma manera que en el documento WO 2008/068637).

En el modo de realización particular, dicha proteína salvaje de pliegue OB se selecciona entre Sac7d o Sac7e procedentes de *Sulfolobus acidocaldarius*, Sso7d procedente de *Sulfolobus solfataricus*, DBP 7 procedente de *Sulfolobus tokodaii*, Ssh7b procedente de *Sulfolobus shibatae*, Ssh7a procedente de *Sulfolobus shibatae*, y p7ss procedente de *Sulfolobus solfataricus*.

Se trata por lo tanto de la proteína con la cual se compara la variante utilizada en la composición para administración por vía oral de la presente invención.

Las diferentes secuencias de proteínas Sac7d, Sso7d, Sac7e, Ssh7b, SSh7a, DBP7 y Sis7 se representan mediante la SEQ ID n° 1 a SEQ ID n° 7 respectivamente.

Una variante de una proteína de esta familia Sac7d se denomina nanofitina. La realización de la invención se lleva a cabo así preferiblemente sobre unas variantes de las proteínas representadas mediante la SEQ ID n° 1 a SEQ ID n° 7, en particular sobre unas variantes de Sac7d.

En el caso de una composición líquida, la concentración de la variante en la composición según la presente invención es generalmente superior a 10 ng/ml e inferior a 600 mg/ml. Por lo tanto, es generalmente inferior a 500 mg/ml, preferentemente inferior a 250 mg/ml, preferentemente inferior a 100 mg/ml, o a 50 mg/ml, incluso inferior a 10 mg/ml. Es generalmente superior a 10 ng/ml, preferentemente superior a 50 ng/ml, preferentemente superior a 100 ng/ml.

La concentración se adapta a la dosis que se desea administrar al paciente para una toma comprendida entre 5 y 20 ml.

Para una composición sólida, la dosis se adapta en función del número de comprimidos (o tabletas u otros) que tomará el paciente para obtener la dosis eficaz desde un punto de vista terapéutico.

De manera general, se administra al paciente una cantidad muy variable (que dependerá especialmente de la naturaleza de la enfermedad, del antígeno considerado, eventualmente de la afinidad de la variante de la proteína de pliegue OB frente a este antígeno, del peso del paciente, de la utilización en combinación o no con otros medicamentos para la patología). El intervalo irá por lo tanto generalmente de 10 mg/kg hasta 200 mg/kg, incluso 400 mg/kg de la variante de la proteína de pliegue OB en una o varias tomas. Sin embargo, y así como se muestra anteriormente, estos valores límites son sólo unas indicaciones, y es posible preparar unas composiciones para administrar más o menos producto.

La variante presente en la composición según la invención se une de manera específica a una diana de interés. De hecho, se puede haber seleccionado, mediante un método tal como se describe en el documento WO 2008/068637 o WO 2007/139397, por su especificidad de unión con esta diana de interés. Por otro lado, los métodos descritos en estas solicitudes de patente permiten obtener unas afinidades del orden micromolar (WO 2007/139397) o nanomolar (WO 2008/068637).

Las dianas de interés se seleccionan en función de la enfermedad que se desea tratar. Se pueden citar así cualquier antígeno, anticuerpo, proteína celular, proteína circulante, péptidos. Se puede tener como diana también un principio activo de medicamento, o un ácido nucleico particular. Se considera en particular que la diana de interés sea una interleucina, una citoquina, un receptor de citoquinas o de interleucinas, una proteína codificada por un oncógeno, una proteína de superficie de un microorganismo, o un lipopolisacárido de microorganismo.

La composición para uso terapéutico o diagnóstico según la invención puede presentarse en cualquier forma conocida en la técnica. En particular, se presenta en forma de cápsulas, de comprimidos (recubiertos con película o no), de píldoras o de tabletas. En otro modo de realización, se presenta en forma de una composición líquida, tal como un jarabe. Puede también presentarse en forma sólida.

En el caso en el que la composición se presenta en una forma sólida, se puede utilizar cualquier excipiente conocido en la técnica, tal como el talco (E553b), la celulosa microcristalina, la lactosa, el almidón (en particular de maíz), el estearato de magnesio (E572), el ácido esteárico (E570), la celulosa microcristalina. Cuando la composición se presenta en forma de un comprimido recubierto con película, dicha película puede estar formada de cualquier sustancia conocida en la técnica, tal como la hipromelosa (E464), la etilcelulosa, el macrogol, el talco (E553b), el dióxido de titanio (E171), el óxido de hierro (E172).

Las composiciones pueden también ser de liberación retardada ("slow release"). Tales formulaciones de liberación controlada o retardada se describen, en particular, en el documento WO 2011/077239. Así, estas composiciones pueden incluir unas matrices en las que se presentan las proteínas de pliegue OB (naturales o las variantes), eventualmente con otros ingredientes. Estas matrices pueden ser de manera que permiten una liberación inmediata de una parte de las proteínas de pliegue OB, seguida de una liberación retardada de otra parte de estas proteínas.

En las composiciones orales que se presentan en forma sólida, las proteínas pueden liofilizarse o integrarse en unas matrices tales como se describen en el documento WO 98/043615.

No obstante, conviene señalar que los ejemplos muestran claramente que las variantes de las proteínas de pliegue OB y en particular cuando la proteína de pliegue OB es de la familia de Sac7d (SEQ ID nº 1 a SEQ ID nº 7) son resistentes a la degradación gástrica y pueden, por lo tanto, ejercer sus efectos a nivel del intestino, incluso de la circulación sistémica. Por lo tanto, está claro que, incluso si los elementos de la composición para administración por vía oral pueden permitir la mejora de la protección de estas proteínas, esto es sólo una ventaja, pero no un elemento esencial para la realización del efecto técnico.

Cuando las composiciones están en forma líquida, las proteínas están generalmente presentes directamente en la solución.

Se utiliza generalmente PBS (tampón fosfato salino, soluto fisiológico que contiene cloruro de sodio, fosfato disódico, fosfato monopotásico y un poco de cloruro de potasio), TBS (del inglés *Tris-buffered saline*), un tampón citrato (fabricado especialmente con citrato monosódico, 100 mM), o HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetano sulfónico, compuesto orgánico zwitteriónico, tampón que presenta una buena estabilidad al pH fisiológico).

Aparte del tampón citrato para el cual el pH se ajusta entre 4 y 6, los tampones están preferiblemente a pH 7,4.

Sin embargo, es posible utilizar otros tipos de tampones para preparar las composiciones líquidas orales.

Por supuesto, es preferible que la preparación de estos tampones se efectué en condiciones que permitan una administración a pacientes (trazabilidad, buenas prácticas de fabricación, etc.).

Las variantes de las proteínas de pliegue OB utilizadas en la composición según la invención pueden producirse por síntesis química en fase sólida o por recombinación genética. La síntesis química se puede realizar, por ejemplo, con un sintetizador automático de péptido de tipo Applied Biosystems, mod. 433A, o con química Fmoc, que utiliza el grupo fluorenilmetiloxycarbonilo para la protección temporal de la función α -amínica de los aminoácidos.

Sin embargo, se prefiere producir las variantes utilizables en el ámbito de la invención por ingeniería genética, en particular integrando una secuencia de ácido nucleico que codifica para dicho polipéptido en un vector de expresión. Este vector de expresión se introduce entonces en una célula hospedante (las bacterias tales como *Escherichia coli* son particularmente adecuadas) que se cultiva en condiciones de cultivo que permiten la síntesis del polipéptido (se pueden utilizar especialmente unos promotores inducibles aguas arriba del polipéptido en el vector de expresión). Se recupera entonces el polipéptido sintetizado. Se puede entonces injertar cualquier tipo de moléculas en N- o C-terminal del polipéptido.

El experto en la materia conoce los métodos de producción de polipéptidos, que se describen especialmente en el documento Sambrook, Fritsch y Maniatis, MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, 2ª edición.

La composición según la invención puede contener unas variantes de la proteína de pliegue OB solas o con otros principios activos. Así, la composición puede también contener al menos un agente seleccionado entre los agentes antibacterianos, antiparasitarios, antifúngicos, antiinflamatorios, antipruríticos, anestésicos, antivirales, queratolíticos, antirradicales libres.

Esta composición puede también contener un agente regulador de pH, especialmente para permitir la regulación del pH alrededor de pH 7.

Las variantes de la proteína de pliegue OB pueden también fusionarse con una proteína activa o cualquier otro compuesto, especialmente a fin de aumentar su tiempo de vida media.

La composición según la invención se puede utilizar también en un método de diagnóstico. Así, en un modo de realización particular, la variante de la proteína de pliegue OB está acoplada a un agente de detección o de contraste, un trazador o un metal. Esto permite especialmente un seguimiento de este agente de detección (agente de contraste, trazador, metal) y determinar los órganos sobre los cuales se une la variante de la proteína de pliegue OB (lo que indica la presencia de la diana de interés). Esta composición permite entonces un método de detección de la presencia de un antígeno específico en un órgano, especialmente en el aparato gastrointestinal, que comprende la etapa de administración de una composición por vía oral tal como se ha descrito anteriormente, comprendiendo dicha composición una variante de una proteína de pliegue OB que se une a dicho antígeno, y acoplado a un trazador detectable (en particular la detección de las emisiones de radiaciones emitidas por el trazador, o un metal, o un agente de contraste). Este método puede así comprender la etapa de detección de la presencia del trazador en el cuerpo humano, y de localización del órgano en el que se detecta este trazador, que permite sacar una conclusión la presencia del antígeno en el órgano en el que se detecta este trazador. Esta conclusión en cuanto a la presencia del antígeno en un órgano es clave para sacar una conclusión en este método de diagnóstico, ya que permite sacar una conclusión en cuanto a la existencia de una patología particular, en particular si el antígeno es un marcador de esta patología. Los trazadores más comunes son unos isótopos (con una vida media de menos de dos horas), tal como el flúor 18 (^{18}F) u otros radioelementos tales como los ^{15}O , ^{13}N y ^{11}C .

La invención se refiere también a un procedimiento de preparación de una composición para administración por vía oral, que comprende la etapa de mezclar una variante de una proteína salvaje de pliegue OB con un excipiente para la administración por vía oral, farmacéuticamente aceptable.

La invención se refiere también a una composición para la administración por vía oral, según la invención, que contiene una variante de una proteína salvaje de pliegue OB, presentando dicha variante entre 5 y 32 restos mutados en la interfaz de unión de dicha proteína salvaje de pliegue OB a su ligando natural, como medicamento. En este caso particular, dicha variante se une de manera específica a una diana de interés, que es una diana terapéutica.

La invención se refiere también a una composición para la administración por vía oral según la invención para el tratamiento de una enfermedad o de un desorden sistémico o más específicamente de una enfermedad o de un desorden del sistema gastrointestinal. En este modo de realización, la variante de la proteína de pliegue OB utilizada se dirige a (se une a) un factor etiológico de la enfermedad considerada o una diana terapéutica relacionada con esta enfermedad.

Una enfermedad del sistema gastrointestinal es una enfermedad especialmente seleccionada entre las amibiasis, cánceres de colon y de recto, cánceres del estómago y de duodeno, cánceres de esófago, enfermedades inflamatorias del aparato digestivo (MICI), cáncer de páncreas, cólera, hepatitis y cirrosis del hígado (especialmente hepáticas debidas a los virus B o C), colitis (especialmente debido a *Clostridium*), diarreas (especialmente bacterianas (en particular *Shigella*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia pseudotuberculosis* y *Yersinia enterocolitica*) o virales (en particular debidas a los parvovirus y reovirus, rotavirus (Réo-like virus), enterovirus, astrovirus, corona-like virus), enfermedad celiaca del adulto, enfermedad de Whipple, pancreatitis, síndrome del colon irritable, tumores abdominales, tumores de hígado, úlcera del duodeno o del estómago, parásitos intestinales, síndrome de Zollinger y Ellison.

Una enfermedad sistémica es una enfermedad localizada en un órgano diferente del sistema gastrointestinal.

En un modo de realización, se selecciona por lo tanto una variante de la proteína de pliegue OB, especialmente mediante los métodos de cribado descritos en el documento WO 2008/068637, que se une a una diana terapéutica (efector o factor etiológico) implicada en la enfermedad o el desorden que se desea tratar, y se formula esta variante en una composición para la administración por vía oral.

La invención se refiere también a un método de tratamiento de una enfermedad o de un desorden sistémico o más precisamente de una enfermedad o de un desorden del sistema gastrointestinal, caracterizado por que se administra por vía oral una composición según la invención, que contiene una cantidad terapéutica eficaz de una proteína de pliegue OB que se dirige a (que se une a), preferentemente, un factor etiológico o una diana terapéutica característica de dicha enfermedad o de dicho desorden.

Ejemplos

En el conjunto de los ejemplos, se utilizan unas nanofitinas, tales como se han definido anteriormente, es decir unas variantes de Sac7d, obtenidas por cribado de un banco combinatorio contra una diana de interés, según un método similar al método descrito en el documento WO 2008/068637. El objetivo de estos ejemplos es demostrar que las proteínas de pliegue OB, y especialmente las nanofitinas son capaces de resistir a la degradación en el estómago y tener un efecto directamente sobre el sitio del sistema gastrointestinal (el intestino en este ejemplo) en los que su acción es necesaria.

Ejemplo 1: prueba de eficacia de nanofitinas administradas por vía oral

Se han ensayado tres nanofitinas A1, A2, A3 procedentes del cribado de un banco de variantes de Sac7d por su afinidad contra una diana de interés, implicada en una enfermedad del sistema gastrointestinal (inflamación del intestino). Estas nanofitinas se han producido en un sistema bacteriano, bien en forma de una fusión con una etiqueta polihistina, o en ausencia de fusión (no etiquetada).

Se han suspendido las nanofitinas en PBS (tampón fosfato salino).

Se han ensayado estas nanofitinas sobre un modelo murino de inflamación intestinal (colitis) inducida con TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico), tal como se describe en Scheiffele y Fuss (Curr Protoc Immunol. Agosto de 2002; Capítulo 15:Unit 15.19), bien en modo preventivo con la aplicación de una dosis de nanofitina por día a partir de 5 días antes de la inducción con TNBS y un sacrificio de los ratones 2 días después, o en modo curativo con aplicación de una dosis de nanofitina por día a partir del día de inducción con TNBS y un sacrificio de los ratones 4 días después.

El efecto de las nanofitinas se ha evaluado a nivel macroscópico y a nivel histológico. Para la evaluación a nivel macroscópico, el colon se ha examinado bajo microscopio de disección (x5) a fin de evaluar las lesiones según los criterios de Wallace. El resultado de Wallace evalúa las lesiones macroscópicas sobre una escala de 0 a 10 en base a criterios que reflejan la inflamación (correspondiendo 0 a la ausencia de inflamación y 10 a una inflamación agravada), tales como la hiperemia, el número y la extensión de las ulceraciones (Pierre Desreumaux, 2001, J Exp Med., 193, 827 - 838). Para la evaluación a nivel histológico, se ha cortado un trozo de colon situado a 2 cm por encima del canal anal, después se ha fijado durante la noche en paraformaldehído al 4% y se ha integrado en parafina. Las secciones marcadas con hematoxilina y eosina se examinaron "a ciegas" y se evaluaron según los criterios de Ameho. El resultado de Ameho evalúa las lesiones sobre una escala de 0 a 6 en base a criterios que reflejan la inflamación (correspondiendo 0 a la ausencia de inflamación y 6 a una inflamación agravada) tales como la infiltración celular, la profundidad y extensión en la superficie de la lesión (Pierre Desreumaux, 2001, J Exp Med., 193, 827 - 838). En los dos casos, los resultados se han convertido en porcentaje de eficacia que refleja el porcentaje de disminución del resultado con respecto al resultado global de los ratones inducidos no tratados.

Se ha utilizado, como control, una molécula de referencia comercializada como antiinflamatorio intestinal, el Pentasa® (5-amino-salicílico), utilizado en su dosis óptima. Los resultados se indican a título de referencia más que comparativo, las evaluaciones y vías de administración no son rigurosamente idénticas a las aplicadas para las nanofitinas.

Aplicado de manera preventiva por vía rectal (30 mM), el Pentasa® da una eficacia del 37% (nivel macroscópico) y del 29% (nivel histológico).

Aplicado en el modelo curativo (presencia *ad libitum* en la comida de los animales), el Pentasa® da una eficacia del 59% (nivel macroscópico) y del 39% (nivel histológico).

Tabla I – Resultados obtenidos sobre el modelo de inflamación intestinal (porcentaje de eficacia)

			A1		A2		A3		A3 no etiquetada	
			M	H	M	H	M	H	M	H
A3	Preventivo	Dosis (mg/kg)								
		10					27,8	33,6		
		100					18,2	28,1		
		400					48,6	45,1		
A3 no etiquetada	Preventivo	10							32	26
		100							65	75
		400					54	61	56	70
Eficacia en modelo curativo	curativo	100	32	43	26	30	37	43		
M: eficacia a nivel macroscópico H: eficacia a nivel histológico										

Estos resultados muestran que las nanofitinas son capaces de actuar directamente sobre la diana localizada en el intestino después de la administración por vía oral, que atraviesan efectivamente el estómago sin degradarse, y que presentan unos niveles de eficacia comparables con el producto de referencia.

Listado de Secuencias

<110> AFFILOGIC
 <120> COMPOSICIONES PARA ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL QUE COMPRENDE UNA VARIANTE DE UNA PROTEÍNA DE PLIEGUE OB
 5 <130> BRV 95 - WO
 <150> FR 14/60226
 <151> 2014-10-24
 <160> 8
 <170> PatentIn version 3.3
 10 <210> 1
 <211> 66
 <212> PRT
 <213> *Sulfolobus acidocaldarius*
 15 <400> 1
 Met Val Lys Val Lys Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Glu Val Asp
 1 5 10 15
 Thr Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Val Ser Phe
 20 25 30
 Thr Tyr Asp Asp Asn Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu Lys
 35 40 45
 Asp Ala Pro Lys Glu Leu Leu Asp Met Leu Ala Arg Ala Glu Arg Glu
 50 55 60
 Lys Lys
 65
 20 <210> 2
 <211> 64
 <212> PRT
 <213> *Sulfolobus solfataricus*
 <400> 2
 Met Ala Thr Val Lys Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Glu Val Asp
 1 5 10 15
 Ile Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Ile Ser Phe
 20 25 30
 Thr Tyr Asp Glu Gly Gly Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu
 35 40 45
 Lys Asp Ala Pro Lys Glu Leu Leu Gln Met Leu Glu Lys Gln Lys Lys
 25 50 55 60
 <210> 3
 <211> 65
 <212> PRT
 30 <213> *Sulfolobus acidocaldarius*
 <400> 3

ES 2 797 048 T3

Met Ala Lys Val Arg Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Glu Val Asp
1 5 10 15

Thr Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Val Ser Phe
20 25 30

Thr Tyr Asp Asp Asn Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu Lys
35 40 45

Asp Ala Pro Lys Glu Leu Met Asp Met Leu Ala Arg Ala Glu Lys Lys
50 55 60

Lys
65

<210> 4

<211> 64

5 <212> PRT

<213> *Sulfolobus shibatae*

<400> 4

Met Val Thr Val Lys Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Glu Val Asp
1 5 10 15

Thr Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Ile Ser Phe
20 25 30

Thr Tyr Asp Glu Gly Gly Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu
35 40 45

Lys Asp Ala Pro Lys Glu Leu Leu Gln Met Leu Glu Lys Gln Lys Lys
50 55 60

10 <210> 5

<211> 64

<212> PRT

<213> *Sulfolobus shibatae*

<400> 5

15 Met Ala Thr Val Lys Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Gln Val Asp
1 5 10 15

Ile Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Ile Ser Phe
20 25 30

Thr Tyr Asp Glu Gly Gly Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu
35 40 45

Lys Asp Ala Pro Lys Glu Leu Leu Gln Met Leu Glu Lys Gln Lys Lys
50 55 60

20 <210> 6

<211> 64

<212> PRT

<213> *Sulfolobus sp.*

<400> 6

ES 2 797 048 T3

Met Val Thr Val Lys Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Glu Val Asp
1 5 10 15

Ile Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Ile Ser Phe
20 25 30

Thr Tyr Asp Asp Asn Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu Lys
35 40 45

Asp Ala Pro Lys Glu Leu Leu Gln Met Leu Glu Lys Ser Gly Lys Lys
50 55 60

<210> 7

<211> 64

<212> PRT

<213> *Sulfolobus islandicus*

<400> 7

Met Val Thr Val Lys Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Gln Val Asp
1 5 10 15

Thr Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Ile Ser Phe
20 25 30

Thr Tyr Asp Glu Gly Gly Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu
35 40 45

Lys Asp Ala Pro Lys Glu Leu Leu Gln Met Leu Glu Lys Gln Lys Lys
50 55 60

<210> 8

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia consenso

<220>

<221> VARIANTE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa es V, A o T

<220>

<221> VARIANTE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa es T o K

<220>

<221> VARIANTE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa es R o K

<220>

<221> VARIANTE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa es E o Q

<220>

<221> VARIANTE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa es T o I

<220>

<221> VARIANTE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa es A, V o I

<220>

<221> VARIANTE

<222> (36)..(38)

<223> Xaa Xaa Xaa es EGG o DN-
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (56)..(56)
 5 <223> Xaa es M o L
 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa es Q o D
 10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> (60)..(60)
 <223> Xaa representa A, ARAE, EKQKK, EKSGKK, ARAEREKK, ARAEKKK, ACAEREKK o ACAEKKK
 <400> 8
 Met Xaa Xaa Val Xaa Phe Lys Tyr Lys Gly Glu Glu Lys Xaa Val Asp
 1 5 10 15
 15 Xaa Ser Lys Ile Lys Lys Val Trp Arg Val Gly Lys Met Xaa Ser Phe
 20 25 30
 Thr Tyr Asp Asp Asn Xaa Gly Lys Thr Gly Arg Gly Ala Val Ser Glu
 35 40 45
 Lys Asp Ala Pro Lys Glu Leu Xaa Xaa Met Leu Xaa
 50 55 60

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición para la administración por vía oral para un uso terapéutico o diagnóstico, que comprende una variante de una proteína salvaje de pliegue OB, presentando dicha variante entre 5 y 32 restos mutados en la interfaz de unión de dicha proteína salvaje de pliegue OB a su ligando natural.
- 10 2. Composición para una utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que dicha proteína salvaje de pliegue OB se selecciona entre Sac7d o Sac7e procedentes de *Sulfolobus acidocaldarius*, Sso7d procedente de *Sulfolobus solfataricus*, DBP 7 procedente de *Sulfolobus tokodaii*, Ssh7b procedente de *Sulfolobus shibatae*, Ssh7a procedente de *Sulfolobus shibatae*, y p7ss procedente de *Sulfolobus solfataricus*.
- 15 3. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizada por que dicha variante se une a una diana de interés seleccionada entre los antígenos, los anticuerpos, las proteínas celulares, las proteínas circulantes, los péptidos, los principios activos de medicamentos, los ácidos nucleicos, y especialmente las interleucinas, las citoquinas, los receptores de citoquinas o interleucinas, las proteínas codificadas por unos oncógenos, las proteínas de superficies de microorganismos, y los lipopolisacáridos de microorganismos.
- 20 4. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que se presenta en forma de cápsulas, de comprimidos, de tabletas o de píldoras.
- 5 5. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que se presenta en forma de una composición líquida.
- 25 6. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que contiene además al menos un agente seleccionado entre los agentes antibacterianos, antiparasitarios, antifúngicos, anti-inflamatorios, antipruríticos, anestésicos, antivirales, queratolíticos, antirradicales libres.
- 30 7. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 6, para su utilización en el tratamiento de un desorden o de una enfermedad del sistema gastrointestinal.
- 35 8. Procedimiento de preparación de una composición para administración por vía oral según una de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende la etapa de mezclar una variante de una proteína salvaje de pliegue OB, presentando dicha variante entre 5 y 32 restos mutados en la interfaz de unión de dicha proteína salvaje de pliegue OB a su ligando natural con un vehículo farmacéuticamente aceptable para una administración por vía oral.
9. Composición para una utilización según una de las reivindicaciones 1 a 5, comprendiendo dicha composición una variante de una proteína de pliegue OB que se une a un antígeno del cual se desea detectar la presencia en un órgano, especialmente en el aparato gastrointestinal, estando la variante acoplada a un trazador.