

REIVINDICACIONES

Habiendo descrito la presente invención como antecede, se considera como novedad y, por lo tanto, se reclama como
5 propiedad, lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Un Dominio Variable Único de Inmunoglobulina (ISVD),
que tiene:

- Una CDR1 (según AbM) que es la secuencia de aminoácidos GFTFSTADMG (SEQ ID NO: 5).

10 - Una CDR2 (según AbM) que es la secuencia de aminoácidos RISGIDGTTY (SEQ ID NO: 6).

- Una CDR3 (según AbM) que es la secuencia de aminoácidos PRYADQWSAYDY (SEQ ID NO: 4);
y tener:

15 - Un grado de identidad de la secuencia como la de la SEQ ID NO: 1 (en la que cualquier extensión C-terminal que puede estar presente así como las CDR no se tienen en cuenta para determinar el grado de identidad de la secuencia) de al menos 85%, preferiblemente de al menos 90%, más
20 preferiblemente de al menos 95%; o

- De no más de 7, tal como no más de 5, preferiblemente no más de 3, tales como solo 3, 2 o 1 "diferencias de aminoácidos" (como se define aquí, y no teniendo en cuenta ninguna de las mutaciones enumeradas anteriormente en

posición (es) 11, 89, 110 o 112 que pueden estar presentes y sin tener en cuenta ninguna extensión C-terminal que pueda estar presente) como la de la SEQ ID NO: 1 (en la que dichas diferencias de aminoácidos, si se encuentran presentes, pueden encontrarse en los marcos o las CDR, pero preferiblemente están presentes sólo en los marcos y no en las CDR); y opcionalmente tener:

- Una extensión C-terminal (X)_n, en la que n es de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 5, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 (y preferiblemente 1 o 2, tal como 1); y cada X es un residuo de aminoácido (preferiblemente de origen natural) que se elige independientemente, y preferiblemente se elige independientemente del grupo que consiste en alanina (A), glicina (G), valina (V), leucina (L) o isoleucina (I) ; en el cual:

- El residuo de aminoácido en la posición 11 se elige preferiblemente de L o V; y

- El residuo de aminoácido en la posición 89 preferiblemente se elige de T, V o L; y

- El residuo de aminoácido en la posición 110 se elige preferiblemente de T, K o Q; y

- El residuo de aminoácido en la posición 112 se elige preferiblemente de S, K o Q; tal que (i) la posición 89 es T; o (ii) la posición 89 es L y la posición 11 es V; o (iii) la

posición 89 es L y la posición 110 es K o Q; o (iv) la
posición 89 es L y la posición 112 es K o Q; o (v) la
posición 89 es L y la posición 11 es V y la posición 110 es K
o Q; o (vi) la posición 89 es L y la posición 11 es V y la
5 posición 112 es K o Q; o (vii) la posición 11 es V y la
posición 110 es K o Q; o (viii) la posición 11 es V y la
posición 112 es K o Q.

2. El ISVD según la reivindicación 1, en el que el
residuo de aminoácido en la posición 49 es una alanina.

10 3. El ISVD de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el
que el residuo de aminoácido en la posición 74 es serina.

4. El ISVD de acuerdo con la reivindicación 3, en el que
el residuo de aminoácido en la posición 73 es N y el residuo
de aminoácido en la posición 75 es K.

15 5. El ISVD según una o cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho ISVD se elige del
grupo que consiste en la SEQ ID NO: 40, 39, 36, 37, 38, 41 y
61-68, en particular la SEQ ID NO: 40, 39 y 36, más
particularmente la SEQ ID NO: 40.

20 6. Un Dominio Variable Único de Inmunoglobulina según
una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a 5, que
está en formato esencialmente monovalente.

7. Un Dominio Variable Único de Inmunoglobulina según la
reivindicación 5, que tiene una D en la posición 1 y una

extensión C-terminal X(n), que es preferiblemente un residuo de alanina C-terminal.

8. Un compuesto que comprende al menos un ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1
5 a la 5.

9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende al menos dos ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 5.

10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en
10 el que dichos al menos dos ISVD pueden ser iguales o diferentes.

11. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dichos al menos dos ISVD se eligen independientemente del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 8-41, 61-66 y 69.

15 12. El compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 11, en el que dicho compuesto comprende además un residuo de unión a proteína de suero.

13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho residuo de unión a proteína de suero se une a la
20 albúmina de suero.

14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en el que dicho residuo de unión a proteína de suero es un ISVD que se une a la albúmina de suero.

15. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, en

el que dicha albúmina de suero que se une a ISVD consiste esencialmente en 4 regiones flanqueantes (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en las que
5 CDR1 es SFGMS, CDR2 es SISGSGSDTLYADSVKG y CDR3 es GGSLSR.

16. Compuesto según la reivindicación 15, en el que dicha albúmina de suero que se une a ISVD comprende Alb8, Alb23, Alb129, Alb132, Alb11, Alb11 (S112K) -A, Alb82, Alb82-A, Alb82-AA, Alb82-AAA, Alb82-G. , Alb82-GG, Alb82-GGG, Alb92
10 y Alb223.

17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en el que dicho residuo de unión a proteína de suero es un polipéptido no basado en anticuerpo.

18. El compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las
15 reivindicaciones de la 8 a la 11, que comprende además PEG.

19. El compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 18, en el que dichos ISVD están directamente relacionados entre sí o están unidos a través de un enlazador.

20 20. El compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 19, en el que un primer ISVD o un segundo ISVD o posiblemente un tercer ISVD o posiblemente una albúmina de suero que se une a ISVD están unidos a través de un enlazador.

21. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 19 y 20, en el que dicho enlazador se selecciona del grupo que consiste en enlazadores de 5GS, 7GS, 9GS, 10GS, 15GS, 18GS, 20GS, 25GS, 30GS y 35GS.

5 22. Un constructo que comprende o consiste esencialmente en un ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7 o un compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21, y que comprende además uno o más grupos, residuos, o unidades
10 de unión, opcionalmente unido a través de uno o más enlazadores peptídicos.

23. Un constructo según la reivindicación 22, en la que dichos uno o más grupos, residuos, o unidades de unión se eligen del grupo que consiste en una molécula de
15 polietilenglicol, proteínas de suero o fragmentos de las mismas, unidades de unión que pueden enlazarse a proteínas de suero, una porción Fc, y pequeñas proteínas o péptidos que pueden unirse a las proteínas de suero.

24. Una composición que comprende un ISVD de acuerdo con
20 una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, un compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21 o el constructo de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 22 a la 23.

25. La composición según la reivindicación 24, que es una composición farmacéutica.

26. La composición de acuerdo con la reivindicación 25, que además comprende al menos un vehículo, diluyente o
5 excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente comprende uno o más polipéptidos o compuestos farmacéuticamente activos adicionales.

27. La composición de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 24 a la 26, el constructo de
10 acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 22 a la 23, el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, o el compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21 para uso como medicamento.

15 28. La composición de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 24 a la 26, el constructo de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 22 a la 23, el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, o el compuesto de acuerdo
20 con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21, para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno del tracto digestivo.

29. La composición de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 24 a la 26, el constructo de

acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 22 a la 23, el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, o el compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21,
5 para uso en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, mucositis, estomatitis aftosa, enfermedad celíaca, traumatismo en el tracto digestivo o cáncer en el tracto digestivo.

10 30. La composición, el compuesto, el constructo o el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones 28 o 29, en donde la composición, el compuesto, el constructo o el ISVD se administran tópicamente al tracto digestivo.

15 31. La composición, el compuesto, el constructo o el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 28 a la 30, en donde la composición, el compuesto, el constructo o el ISVD se administran oralmente en una forma de dosificación adecuada para administración oral al tracto gastrointestinal (GI).

20 32. La composición, el compuesto, el constructo o el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 28 a la 31, en donde la composición, el compuesto, el constructo o el ISVD se administra en una forma de dosificación para administración oral al tracto GI en donde

la forma de dosificación se selecciona a partir de tabletas, cápsulas, píldoras en polvo, gránulos, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires.

5 33. La composición, el compuesto, el constructo o el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 28 a la 31, en donde la composición, el compuesto, el constructo o el ISVD se administra por vía rectal para el tratamiento de una enfermedad o trastorno del tracto
10 digestivo.

 34. La composición, el compuesto, el constructo o el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 28 a la 33, en donde la composición, el compuesto, el constructo o el ISVD se administra por vía rectal en una
15 forma de dosificación para administración rectal, preferiblemente seleccionada entre supositorios y enemas.

 35. La composición, el compuesto, el constructo o el ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 27 a la 29, en donde la composición, el compuesto, el
20 constructo o el ISVD se administra por vía parenteral mediante inyección subcutánea, inyección intracutánea, inyección intravenosa, inyección intramuscular. , inyección intralesional o técnicas de infusión.

 36. La composición, el compuesto, el constructo o el

ISVD según una o cualquiera de las reivindicaciones de la 28 a la 35, en el que la composición, el compuesto, el constructo o el ISVD alcanzan la circulación sistémica de un paciente.

5 37. Un método para identificar un residuo de aminoácido que imparte estabilidad de un ISVD a la degradación gástrica que comprende los pasos de:

 a) Degradar un ISVD por una o más proteasas en fragmentos.

10 b) Analizar los fragmentos de la etapa a) mediante un medio adecuado tal como por ejemplo, LC-MS; identificando de ese modo los residuos de aminoácidos que imparten estabilidad de un ISVD a la degradación gástrica.

 38. Un método para mejorar la estabilidad de un ISVD a
15 la degradación gástrica que comprende los pasos a) y b) de la reivindicación 37, seguido de:

 c) Mutar los residuos de aminoácidos que imparten estabilidad de un ISVD a la degradación gástrica.

 d) Repetir los pasos a) y b) de la reivindicación 37;
20 por lo que la ausencia de uno o más fragmentos indica una estabilidad mejorada del ISVD a la degradación gástrica.

 39. Un ácido nucleico que codifica un ISVD de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, un compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las

reivindicaciones de la 8 a la 21, o un constructo de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 22 a la 23.

40. Un vector de expresión que comprende un ácido
5 nucleico según la reivindicación 39.

41. Una célula huésped o huésped que comprende un ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 38, o un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 40.

42. Un método para producir un ISVD según una o
10 cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7 o un compuesto de acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21, comprendiendo dicho método al menos los pasos de:

a) Expresar, en una célula huésped u organismo huésped
15 adecuado o en otro sistema de expresión adecuado, una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 39; opcionalmente seguido de:

b) Aislar o purificar el ISVD de acuerdo con una o
cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o el compuesto de
20 acuerdo con una o cualquiera de las reivindicaciones de la 8 a la 21.