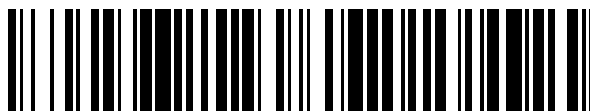


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 649**

51 Int. Cl.:
A61K 38/10 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03759343 .1**
96 Fecha de presentación: **22.09.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1549333**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.07.2005**

54 Título: **ANÁLOGOS DE COMPSTATINA CON ACTIVIDAD MEJORADA.**

30 Prioridad:
20.09.2002 US 412220 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.02.2012

73 Titular/es:
**The Trustees of The University of Pennsylvania
3160 Chestnut Street, Suite 200
Philadelphia, Pennsylvania 19104-6283, US**

72 Inventor/es:
LAMBRIS, John, D.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 373 649 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

Análogos de compstatina con actividad mejorada

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a la activación de la cascada del complemento en el cuerpo. En particular, la presente invención proporciona péptidos y peptidomiméticos capaces de unirse a la proteína C3 e inhibir la activación del complemento.

Antecedentes de la invención

10 El sistema del complemento es la primera línea de defensa inmunológica contra patógenos extraños. Su activación a través de la alternativa clásica o las vías de la lectina conduce a la generación de los péptidos anafilatónicos C3a y C5a y a la formación del complejo de ataque de la membrana C5b-9. El componente del complemento C3 desempeña un papel central en la activación de las tres vías. La activación de C3 por las convertasas de la vía de C3 y su posterior fijación a la superficie diana conduce al ensamblaje del complejo de ataque de la membrana y, en última instancia, al daño o la lisis de las células diana. C3 es único en cuando a que posee una rica arquitectura que proporciona una multiplicidad de diversos sitios de unión a ligando que son importantes en la vigilancia inmunológica y las vías de respuesta inmunológica.

15 La activación inadecuada del complemento puede conducir a daños en la célula huésped. El complemento está implicado en varios estados de enfermedad, incluidas varias enfermedades autoinmunitarias, y se ha descubierto que contribuye a otros estados clínicos, tales como el síndrome respiratorio adulto, ataque cardíaco, rechazo tras xenotransplante y lesiones por quemaduras. También se ha descubierto que las lesiones tisulares mediadas por el complemento son el resultado de situaciones de bioincompatibilidad tales como las que se encuentran en los pacientes sometidos a diálisis o a derivación cardiopulmonar.

20 Las lesiones tisulares en las que participa el complemento están directamente mediadas por el complejo de ataque de la membrana e, indirectamente, por la generación de C3a y C5a. Estos péptidos inducen daños a través de sus efectos sobre los neutrófilos y los mastocitos. *In vivo*, las proteínas plasmáticas y de membrana proporcionan la regulación del complemento en las etapas de activación de C3 y C5. Los inhibidores de las proteínas plasmáticas son el factor H y la proteína de unión a C4, y las proteínas de membrana reguladoras localizadas sobre las superficies celulares son los receptores del complemento 1 (CR1), el factor de aceleración del deterioro (DAF) y la proteína cofactor de membrana (MCP). Estas proteínas inhiben las convertasas C3 y C5 (proteasas de múltiples subunidades) estimulando la disociación de los complejos de múltiples subunidades y/o inactivando los complejos mediante proteólisis (catalizada por el factor I). Mediante ensayo *in vitro* se han identificado varios agentes farmacológicos que regulan o modulan la actividad del complemento, pero *in vivo* se ha demostrado que la mayoría tiene una actividad baja o tóxica.

25 Hasta la fecha en la clínica no se usan inhibidores de la activación del complemento, aunque existen ciertos candidatos para uso clínico, específicamente una forma recombinante del receptor del complemento 1 conocido como el receptor soluble del complemento 1 (sCR1) y un anticuerpo monoclonal humanizado antiC5 (5G1.1-scFv). Se ha demostrado que ambas sustancias suprimen la activación del complemento en modelos animales *in vivo* (Kalli y col., Springer Semin. Immunopathol. 15: 417-431, 1994; Wang y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 8563-8568, 1996). No obstante, cada sustancia posee la desventaja de ser proteínas de peso molecular grande (240 kDa y 26.000 kDa, respectivamente) que son difíciles de fabricar y deben administrarse mediante infusión. De acuerdo con esto, recientes investigaciones han destacado el desarrollo de agentes activos más pequeños que son más fáciles de liberar, más estables y menos costosos de fabricar.

30 La patente de EE.UU. nº 6.319.897 concedida a Lambris y col. describe el uso de una biblioteca aleatoria combinatoria de péptidos presentados en fagos para identificar un péptido de 27 residuos que se une a C3 e inhibe la activación del complemento. Este péptido se fragmentó en un segmento cíclico de 13 residuos que mantenía una actividad completa, que en la técnica se denomina compstatina. La compstatina inhibe la escisión de C3 en C3a y de C3b por la C3 convertasa. La compstatina se ha investigado en una serie de experimentos de interfaz *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* e *in vivo/ex vivo* y se ha demostrado que: (1) inhibe la activación del complemento en suero humano (Sahu y col., J. Immunol. 157: 884-891, 1996); (2) inhibe la activación del complemento inducida por heparina/protamina sin efectos secundarios significativos (Soulka y col., Clin.Immunol. 96: 212-221, 2000); (3) prolonga la vida de un xenoinjerto porcino a humano perfundido con sangre humana (Fiane y col., Transplant.Proc. 31:934-935, 1999a; Fiane y col., Xenotransplantation 6: 52-65, 1999b; Fiane y col., Transplant.Proc. 32: 899-900, 2000); (4) inhibe la activación del complemento en modelos de derivación cardiopulmonar, plasmaféresis y circuitos extracorpóreos para diálisis (Nilsson y col., Blood 92: 1661-1667, 1998); y (5) posee toxicidad baja (Furlong y col., Immunopharmacology 48: 199-212,2000).

35 La compstatina es un péptido que comprende la secuencia ICVVQDWGHRCT-NH₂ (SEC ID N° 1), en la que Cys2 y Cys12 forman un puente disulfuro. Su estructura tridimensional se determinó usando espectroscopia RMN bidimensional homonuclear en combinación con dos metodologías computacionales restringidas experimentalmente. La primera metodología implicaba geometría de distancia, dinámica molecular e hibridación simulada (Morikis y col.,

Protein Science 7: 619-627, 1998) y la segunda metodología implicaba la optimización global (Klepeis y col., J. Computational Chemistry, 20: 1344-1370, 1999). La estructura de la compstatina reveló una superficie molecular que comprende un parche polar y un parche no polar. La parte polar incluye un giro β de tipo I y el parche no polar incluye el puente disulfuro. Además, se sintetizó una serie de análogos con sustituciones de alanina (un barrido de alanina) y se investigó la actividad, lo que reveló que los cuatro residuos del giro β y el puente disulfuro con el clúster hidrófobo adyacente son esenciales para la actividad inhibidora (Morikis y col., 1998, ant.).

Usando un ensayo de actividad del complemento que comprende medir la lisis de eritrocitos mediada por una vía alternativa, se ha medido la CI_{50} de la compstatina en 12 μ M. Ciertos de los análogos analizados anteriormente han mostrado actividad equivalente a la de la compstatina o ligeramente mayor. El desarrollo de los análogos o miméticos de la compstatina con mayor actividad constituiría un avance significativo en la técnica.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona análogos y miméticos del péptido inhibidor del complemento, compstatina (ICVVQDWGHRCT-NH₂; SEC ID N° 1), que tienen una actividad inhibidora del complemento mejorada en comparación con la compstatina.

En un aspecto, la invención caracteriza un compuesto que inhibe la activación del complemento, que comprende un péptido que tiene una secuencia:

Xaa1 Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Trp - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEC ID N°:15); en la que:

Xaa1 es Ile, Val, Leu, Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu o un dipéptido que comprende Gly-Ile;

Xaa2 es Trp o un análogo de Trp;

Xaa3 es His, Ala, Phe o Trp;

Xaa4 es L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly, o un tripéptido que comprende Thr-Ala-Asn, en la que un -OH en carboxi terminal de cualquiera de L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly o Asn es opcionalmente sustituido por NH₂; y los dos residuos de Cys están unidos por un puente disulfuro, en la que

(a) el análogo de Trp en Xaa2 es un anillo aromático bicíclico sustituido o insustituido o dos o más anillos aromáticos monocíclicos sustituidos o insustituidos; o

(b) el análogo de Trp en Xaa2 se selecciona del grupo que consiste en 2-naftilalanina, 1-naftilalanina, ácido carboxílico de 2-indanilglicina, dihidrotriptófano y benzoilfenilalanina; o

(c) el análogo de Trp en Xaa2 es un indol, naftilo o dibenzoílo sustituido o insustituido; o

(d) Xaa1 es Ac-Ile, Xaa2 es Trp o un análogo de Trp que es un indol, naftilo o dibenzoílo sustituido o insustituido, Xaa3 es Ala y Xaa4 es L-treonina o D-treonina.

En ciertas realizaciones, Xaa1 está acetilado y normalmente es Ac-Ile. En otra realización, Xaa3 es Ala. En ciertas realizaciones, Xaa2 es un análogo de Trp que comprende un componente de anillo aromático sustituido o insustituido, que comprende, preferentemente, un anillo bicíclico (p. ej., indol, naftilo) o dos anillos (p. ej., benzoílo). En realizaciones de ejemplo, el análogo de Trp es 2-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido carboxílico de 2-indanilglicina, dihidrotriptófano o benzoilfenilalanina.

En una realización concreta, Xaa1 es Ac-Ile, Xaa2 es Trp o un análogo de Trp que comprende un componente indol, naftilo o dibenzoílo sustituido o insustituido, Xaa3 es Ala y Xaa4 es L-treonina o D-treonina. Las secuencias de ejemplo se seleccionan del grupo que consiste en SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12 y SEC ID N° 13.

En otra realización concreta, Xaa1 es un dipéptido Gly-Ile, y Xaa 4 es un tripéptido Thr-Ala-Asn. Una realización de ejemplo es un péptido que tiene SEC ID N° 14.

Otro aspecto caracteriza un compuesto que inhibe la activación del complemento, que comprende un mimético peptídico parcial o no peptídico del péptido descrito anteriormente, en el que uno o más de los residuos o análogos se sustituye con un compuesto que permite la conservación o potenciación de la actividad de inhibición de la activación del complemento.

Estos compuestos son de utilidad práctica para cualquier fin para el que se use la propia compstatina, como se conoce en la técnica.

Otro aspecto de la invención caracteriza una molécula de ácido nucleico aislado que codifica uno o más péptidos que inhiba la activación del complemento, en el que el péptido comprende una secuencia:

Xaa1 – Cys – Val – Xaa2 - Gln - Asp - Trp - Gly – Xaa3 - His - Arg –

Cys – Xaa4 (SEQ ID NO:15);

en la que:

Xaa1 es Ile, Val, Leu o un dipéptido que comprende Gly-Ile;
 Xaa2 es Trp;
 Xaa3 es His, Ala, Phe o Trp; y
 Xaa4 es L-Thr, Ile, Val, Gly, o un tripéptido que comprende Thr-Ala-Asn; en el que los dos residuos de Cys están unidos por un puente disulfuro.

Normalmente, la molécula de ácido nucleico aislada codifica un péptido en el que Xaa3 es Ala. En una realización de ejemplo, la molécula de ácido nucleico aislada codifica un péptido que comprende la SEC ID N° 14. En otra realización, el ácido nucleico codifica un concatémero de dos o más de un péptido que comprende la SEC ID N° 14, en el que el concatémero codificado puede ser fragmentado con hidracina para formar una multiplicidad de péptidos que comprenden la SEC ID N° 14.

Vectores de expresión que comprenden cualquiera de las moléculas de ácido nucleico aisladas mencionadas anteriormente se caracterizan en otro aspecto de la invención, junto con células que comprenden los vectores de expresión, que pueden ser células bacterianas, fúngicas, de insecto, de plantas o de mamífero. Los péptidos codificados por estas moléculas de ácido nucleico aisladas son útiles para cualquier fin para el que la compstatina es útil.

Varias características y ventajas de la presente invención se entenderán con referencia a la descripción detallada, figuras y ejemplos siguientes.

Descripción breve de las figuras

Figura 1. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1) y Ac-4W-9A-13dT-OH (SEC ID N° 6). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 2. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1), Ac-4(2Nal)-9A (SEC ID N° 7), Ac-4(2Nal)-9A-OH (SEC ID N° 8) y Ac-4(1Nal)-9A-O (SEC ID N° 9). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 3. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1) y Ac-4(Igl)-9A-OH (SEC ID N° 11). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 4. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1) y Ac-4(Igl)-9A (SEC ID N° 10). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 5. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1) y Ac-4(Dht)-9A-OH (SEC ID N° 12). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 6. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1) y +G-4W-9A-15N-OH (SEC ID N° 14). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 7. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1) y Ac-4(Bpa)-9A-OH (SEC ID N° 13). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Figura 8. Inhibición de la activación del complemento por la compstatina (SEC ID N° 1), Ac-Compstatina (SEC ID N° 2), Ac-4W-9A (SEC ID N° 5) y Ac-4W-9A-OH (SEC ID N° 4). El eje X es la concentración del péptido (μM), el eje Y es la inhibición de la activación del complemento medida mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 2; el control negativo es un péptido lineal ("lineal") que comprende compstatina modificada con alanina sustituyendo a la cisteína en las posiciones 2 y 12.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Se entenderá que los términos siguientes, a menos que se indique lo contrario, tal como se han empleado

anteriormente y a lo largo de la divulgación tienen los significados siguientes:

Las expresiones “farmacéuticamente activo” y “biológicamente activo” se refiere a la capacidad de los compuestos de la invención para unirse a C3 o fragmentos de la misma e inhibir la activación del complemento. Esta actividad biológica se puede medir mediante uno o más de diversos ensayos reconocidos en la técnica, tal como se describe con detalle en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, “alquilo” se refiere a un hidrocarburo saturado, lineal, ramificado o cíclico que tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), prefiriéndose de aproximadamente 1 a aproximadamente 7 átomos de carbono. Los grupos alquilo incluyen, entre otros, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, t-butilo, n-pentilo, ciclopentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, isohexilo, ciclohexilo, ciclooctilo, adamantilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo y 2,3-dimetilbutilo.

Como se usa en el presente documento, “halo” se refiere a Cl, Br, F o I.

Como se usa en el presente documento, “arilo” se refiere a un sistema de anillo aromático mono o bicíclico opcionalmente sustituido que tiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 14 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), prefiriéndose de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono. Ejemplos no limitantes incluyen, por ejemplo, fenilo y naftilo.

Como se usa en el presente documento, “aralquilo” se refiere a radicales alquilo portadores de un sustituyente arilo y tienen de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 átomos de carbono (y todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y números específicos de átomos de carbono en el mismo), prefiriéndose de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 átomos de carbono. Los grupos aralquilo se pueden sustituir opcionalmente. Ejemplos no limitantes incluyen, por ejemplo, bencilo, naftilmetilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, feniletilo y difeniletilo.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, los términos “alcoxi” y “alcoxilo” se refieren a un grupo O-alquilo opcionalmente sustituido en el que alquilo es como se ha definido anteriormente. Ejemplos de grupos alcoxi o alcoxilo incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi y heptoxi.

Como se usa en el presente documento, “carboxi” se refiere a un grupo -C(=O)OH.

Como se usa en el presente documento, “alcoxicarbonilo” se refiere a un grupo -C(=O)O-, en el que el alquilo es como se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, “aroilo” se refiere a un grupo -C(=O)-arilo, en el que el arilo es como se ha definido anteriormente. Entre los grupos aroilo de ejemplo se incluyen benzoílo y naftoílo.

Normalmente, restos químicos sustituidos incluyen uno o más sustituyentes que sustituyen al hidrógeno. Sustituyentes de ejemplo incluyen, por ejemplo, halo, alquilo, cicloalquilo, aralquilo, arilo, sulfhidrilo, hidroxilo (-OH), alcoxilo, ciano (-CN), carboxilo (-COOH), -C(=O)O-alquilo, aminocarbonilo (-C(=O)NH₂), aminocarbonilo N-sustituido (-C(=O)NHR”), CF₃, CF₂CF₃, y similares. En relación a los sustituyentes mencionados anteriormente, cada resto R” puede ser, de forma independiente, cualquiera de H, alquilo, cicloalquilo, arilo o aralquilo, por ejemplo.

Como se usa en el presente documento, “L-aminoácido” se refiere a cualquiera de los alfa-aminoácidos levógiros presentes normalmente en las proteínas o los ésteres de alquilo de dichos alfa-aminoácidos. El término “D-aminoácido” se refiere a los alfa-aminoácidos dextrógiros. A menos que se especifique lo contrario, todos los aminoácidos a los que se hace referencia en el presente documento son L-aminoácidos.

De acuerdo con la presente invención, se ha empleado la información sobre las características biológicas y fisicoquímicas de la compstatina para diseñar análogos de compstatina con una actividad significativamente mejorada en comparación con el péptido parental compstatina. En realizaciones preferidas, los análogos tienen una actividad al menos 5 veces mayor que la compstatina, usando, preferentemente, el ensayo descrito en el Ejemplo 2. Más preferentemente, los análogos tienen una actividad 10-, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, o 50 veces mayor e, incluso más preferentemente, una actividad 60, 70, 80 veces o más mayor que la de la compstatina, usando, preferentemente, el ensayo descrito en el ejemplo 2.

Se ha demostrado que los análogos de la compstatina sintetizados de acuerdo con otros enfoques poseen alguna actividad mejorada en comparación con el péptido parental, es decir hasta seis veces más (Klepeis, y col. 2003, JACS 125: 8422 8423). Los análogos producidos de acuerdo con la presente invención poseen una actividad incluso mayor que el péptido parental o análogos del mismo producidos hasta la fecha, tal como se demuestra en ensayos in vitro como se muestra en las figuras y la Tabla 1 que figura a continuación.

La Tabla 1 muestra la secuencia de aminoácidos y las actividades inhibitoras del complemento de la compstatina y análogos seleccionados con una actividad significativamente mejorada. Los análogos seleccionados se prefieren por

modificaciones específicas de las posiciones designadas (1-13) en comparación con el péptido parental, compstatina.

TABLA 1

Péptido	Secuencia	SEC ID N°	Actividad sobre compstatina
Compstatina	H-ICVVQDWGHRCT-CONH ₂	1	*
Ac-Compstatina	Ac-ICVVQDWGHRCT-CONH ₂	2	3x más
Ac-4Y,9A	Ac-ICVYQDWGAHRCT-CONH ₂	3	10x más
Ac-4W,9A-OH	Ac-ICVWQDWGAHRCT-COOH	4	25x más
Ac-4W,9A	Ac-ICVWQDWGAHRCT-CONH ₂	5	55x más
Ac-4W,9A13dT-OH	Ac-ICVWQDWGAHRCTdT-COOH	6	55x más
Ac-4(2-Nal),9A	Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-CONH ₂	7	60x más
Ac-4(2-Nal),9A-OH	Ac-ICV(2-Nal)QDWGAHRCT-COOH	8	39x más
Ac-4(1-Nal),9A-O	Ac-ICV(1-Nal)QDWGAHRCT-COOH	9	23x más
Ac-4Igl,9A	Ac-ICVIglQDWGAHRCT-CONH ₂	10	55x más
Ac-4Igl,9A-OH	Ac-ICVIglQDWGAHRCT-COOH	11	66x más
Ac-4Dht,9A-OH	Ac-ICVPhtQDWGAHRCT-COOH	12	9x más
Ac-4(Bpa),9A-OH	Ac-ICV(Bpa)QDWGAHRCT-COOH	13	55x más
+G,4W,9A+AN-OH	H-GICVWQDWGAHRCTAN-COOH	14	30x más

dT= D-treonina
 2-Nal= 2-naftilalanina
 1-Nal= 1-naftilalanina
 Igl – ácido 2 indanilglicina carboxílico
 Dht= dihidrotriptófano
 Bpa - benzoilfenilalanina

5 **Modificaciones en el extremo N.** Normalmente, la acetilación del extremo N aumenta la actividad inhibidora del complemento de la compstatina y sus análogos, como se puede ver específicamente comparando la SEC ID N° 1 con la SEC ID N° 2. De acuerdo con esto, la N-acetilación del péptido es una realización preferida de la invención, de utilidad específica cuando los péptidos se preparan sintéticamente. No obstante, en ocasiones supone una ventaja preparar los péptidos mediante la expresión de una molécula ácido nucleico codificador de péptidos y un sistema de expresión procarriota o eucariota, o mediante transcripción y traducción *in vitro*. Para estas realizaciones se usa el extremo N natural. Un ejemplo de un análogo de compstatina adecuado para la expresión *in vitro* o *in vivo* es el de la SEC ID N° 14, en la que el grupo acetilo se ha sustituido por una glicina no modificada en el extremo N. La SEC ID N° 14, QUE ADEMÁS COMPRENDE Trp en la posición X4, Ala en la posición X9 y una extensión en el extremo C de Ala-Asn en las posiciones X14 y X15, es 38 veces más activa que la compstatina en el ensayo de inhibición del complemento descrito en el presente documento.

20 **Modificación dentro del péptido.** Usando procedimientos informáticos que clasifican las secuencias de energía baja, anteriormente se ha determinado que Tyr y Val eran los candidatos más probables en la posición 4 para proporcionar estabilidad y actividad del péptido (Klepeis, y col., 2003, ant.) A la luz de dicha determinación, el presente descubrimiento de que el Trp en la posición 4, especialmente combinado con Ala en la posición 9, da una actividad muchas veces mayor que la del péptido parental, es inesperado (por ejemplo, compárense las actividades de las SEC ID N° 4, 5 Y 6 con las SEC ID N° 2 y 3. Cabría esperar que el Trp contribuya a la agrupación hidrófoba que implica residuos en las posiciones , 2, 3, 4, 12, y 13; no obstante, su cadena lateral grande rige contra la capacidad de un péptido que comprende Trp para mantener su conformación activa. Sin embargo, de acuerdo con la invención, el Trp en la posición 4 del péptido se ha determinado empíricamente para contribuir significativamente a la actividad del péptido.

30 Sin pretender estar limitado por ningún mecanismo de acción concreto, el Trp en la posición 4 del péptido puede potenciar la actividad en virtud de una interacción con el catión- π entre la cadena lateral aromática del Trp y los elementos catiónicos de la región de C3 con la que el péptido interacciona. Se ha establecido que la interacción con el catión- π , que es la atracción electrostática entre un catión y el potencial electrostático negativo asociado con la cara de un sistema π simple, puede contribuir sustancialmente a la unión de ligandos a un amplio abanico de clases de proteínas (para una revisión, véase Zacharias & Dougherty 2002, TIBS 23: 281-287).

35 De acuerdo con esto, en la presente invención se contemplan las modificaciones del Trp en la posición 4 (p. ej., alterar la estructura de la cadena lateral de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica) o sustituciones de análogos de Trp que mantienen o potencian la interacción con el catión- π mencionada anteriormente, para producir análogos con una actividad incluso mayor. Por ejemplo, se encontró que todos los péptidos que comprendían los

análogos de triptófano 2-naftilalanina (SEC ID N° 7, 8), 1-naftilalanina (SEC ID N° 9), ácidos 2-indanilglicina carboxílico (SEC ID N° 10, 11) o dihidrotriptófano (SEC ID N° 12) en la posición 4 poseían un incremento de la actividad inhibidora del complemento, que varía de 9 a 66 veces mayor que la de la compstatina. Además, un péptido que comprende el análogo de fenilalanina, benzoilfenilalanina, en la posición 4 (SEC ID N° 13) poseía una actividad 55 veces mayor que la de la compstatina. Se cree que las composiciones de dos anillos planares de estos compuestos de indol, naftilo o dibenzoilo potencian la interacción π proporcionada por el análogo en la posición 4, de modo que aumenta la actividad del péptido. De acuerdo con esto, se prefiere el uso de los análogos de Trp que comprenden dos o más anillos aromáticos en la presente invención. Dichos análogos son bien conocidos en la técnica e incluyen, entre otros, los análogos de ejemplo en el presente documento, así como derivados insustituídos o sustituidos alternativamente de los mismos. Ejemplos de análogos adecuados se pueden encontrar por referencia a las publicaciones siguientes y muchas otras: Beene, y col. (2002) *Biochemistry* 41: 10262-10269 (que describen, entre otros, Trp metilado y halogenado y otros análogos de Trp y de indol) y las patentes de EE.UU. 6.214.790. 6.169.057. 5. 776. 970. 4.870. 097. 4.576. 750 y 4.299.838:

Modificaciones en el extremo carboxi. Los péptidos producidos mediante procedimientos sintéticos normalmente se modifican en el extremo carboxi para comprender una amida en lugar de un ácido; esta modificación frecuente se puede ver en la Tabla 1 en Compstatina (SEC ID N° 1) y varios análogos. De hecho, en algunos casos se ha determinado que los péptidos que contienen amida terminal poseen mayor actividad que los péptidos que contienen ácido terminal (compárese, por ejemplo, las SEC ID N° 5 y 7 con las SEC ID N° 4 y 8, respectivamente). De acuerdo con esto, una realización preferida de la invención usa la modificación amida en el C-terminal. No obstante, algunas circunstancias favorecen el uso de un ácido en el extremo C. Dichas circunstancias incluyen, entre otras, consideraciones de solubilidad y la expresión de los péptidos *in vitro* o *in vivo* a partir de moléculas de ácido nucleico que codifican péptidos.

El residuo en el extremo carboxi de la compstatina es treonina. En alguna realización de la presente invención, la treonina en C-terminal está sustituida por uno o más aminoácidos naturales o análogos. Por ejemplo, el péptido que tiene la SEC ID N° 6 comprende -treonina en lugar de L-treonina y además posee un grupo COOH en el extremo C. Este péptido muestra actividad igual a la del péptido de SEC ID N° 5, que comprende L-treonina y CONH₂ en el extremo C. Además, la Ile se ha sustituido pro Thr en la posición 13, para obtener un péptido con una actividad 21 veces mayor que la de la compstatina. Además, el péptido de SEC ID N° 14, que comprende una extensión de dipéptido en C-terminal de Ala-Asn, junto con un COOH en el extremo C y un extremo N no acetilado, demuestra una actividad 38 veces mayor que la compstatina. También es adecuado para la producción mediante un sistema de expresión procariota o eucariota, tal como se describe con detalle más adelante.

Otro péptido que muestra un incremento de la actividad en comparación con la compstatina comprende modificaciones en el residuo de N-terminal y dentro del péptido. Este péptido comprende Ac-Leu en la posición 1, Trp en la posición 9 y Gly en la posición 13, pero está sin modificar en la posición 4.

Los análogos de compstatina de la presente invención se pueden preparar mediante varios procedimientos sintéticos de síntesis peptídica a través de la condensación de uno o más residuos de aminoácidos, de acuerdo con los procedimientos de síntesis peptídica convencionales. Preferentemente, los péptidos se sintetizan de acuerdo con metodologías de fase sólida estándar, tales como las que se pueden realizar en un sintetizador peptídico Applied Biosystems Model 431A (Applied Biosystems, Foster City, Calif.), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Otros procedimientos de sintetizar péptidos o peptidomiméticos, bien mediante metodologías de fase sólida o en fase líquida, son bien conocidos para los expertos en la técnica. Durante el curso de la síntesis peptídica, los grupos carboxilo y amino de cadena ramificada pueden protegerse/desprotegerse según sea necesario usando grupos protectores conocidos habitualmente. Un ejemplo de un procedimiento de síntesis peptídica preferido se expone en el Ejemplo 1. Las modificaciones usando grupos protectores alternativos para péptidos y derivados peptídicos serán evidentes para los expertos en la técnica.

Como alternativa se pueden producir ciertos péptidos de la invención mediante expresión en un sistema procariota o eucariota adecuado. Por ejemplo, se puede insertar una construcción de ADN en un vector plasmídico adaptado para la expresión en una célula bacteriana (tal como *E. coli*) o una célula de levadura (tal como *Saccharomyces cerevisiae*) o en un vector baculovirus para la expresión en una célula de insecto o un vector viral para la expresión en una célula de mamífero. Dichos vectores comprenden los elementos reguladores necesarios para la expresión del ADN en la célula huésped, colocados de tal modo que permiten la expresión del ADN en la célula huésped. Dichos elementos reguladores requeridos para la expresión incluyen secuencias promotoras, secuencias de inicio de la transcripción y, opcionalmente, secuencias potenciadoras.

El péptido de la SEC ID N° 14, y otros diseñados de forma similar, es particularmente preferido para la producción mediante la expresión de una molécula de ácido nucleico *in vitro* o *in vivo*. Una construcción de ADN que codifica un concatémero de SEC ID N° 14 (p. ej., 2 o más de la SEC ID N° 14; dependiendo el límite superior del sistema de expresión usado) se puede introducir en un sistema de expresión *in vivo*. Una vez que se ha producido el concatémero, la escisión entre la Asn en el C-terminal y la siguiente G en N-terminal se consigue mediante la exposición del polipéptido a hidracina.

Los péptidos producidos mediante expresión génica en un sistema recombinante procariota o eucariota se pueden

purificar de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. En una realización preferida, se puede usar un sistema de expresión/secreción comercialmente disponible, de modo que se expresa el péptido recombinante y después se secreta de la célula huésped, para purificarse fácilmente en el medio circundante.

5 La estructura de la compstatina se conoce en la técnica y las estructuras de los análogos anteriores se determinan mediante medios similares. Una vez que se ha establecido la conformación concreta deseada de un péptido corro, en la técnica se conocen bien procedimientos para diseñar un péptido o peptidomimético que se adapte a dicha conformación. Véase, por ejemplo, G.R. Marshall (1993), Tetrahedron, 49: 3547-3558; Hruby y Nikiforovich (1991), en Molecular Conformation and Biological Interactions, P. Balaram & S. Ramasehan, eds., Indian Acad. of Sci., Bangalore, PP. 429-455). De particular importancia para la presente invención, el diseño de análogos peptídicos
10 puede perfeccionarse adicionalmente considerando la contribución de varias cadenas laterales de residuos de aminoácidos, como se ha tratado anteriormente (Es decir, para el efecto de los grupos funcionales o para consideraciones estéricas).

Los expertos en la técnica apreciarán que un mimético peptídico puede servir igualmente bien como péptido para el fin de proporcionar la confirmación de estructura específica y las funcionalidades de la cadena lateral requeridas para la unión a C y para inhibir la activación del complemento. De acuerdo con esto, se contempla dentro del alcance de la presente invención producir compuestos de unión a V3, de inhibición del complemento mediante el uso de aminoácidos naturales, derivados de aminoácidos, análogos o moléculas no aminoacídicas capaces de unirse para formar la confirmación estructural adecuada. Un análogo no peptídico o un análogo que comprende componentes peptídicos y no peptídicos, en ocasiones se denomina en el presente documento "peptidomimético" o
15 "mimético isostérico", para designar sustituciones i derivaciones de los péptidos de la invención, que poseen las mismas características conformacionales de la estructura y/u otras funcionalidades, de modo que sea suficientemente similar a los péptidos de ejemplo para inhibir la activación del complemento.

El uso de peptidomiméticos para el desarrollo de análogos peptídicos de alta afinidad es bien conocido en la técnica (véase, por ejemplo, Zhao y col. (1995), Nature Structural Biology 2: 1131-1137; Beely, N. (1994), Trends in Biotechnology 12: 213-216; Hruby, V.J. (1993), Biopolymers 33: 1073-1082). Suponiendo restricciones rotacionales similares a las de los residuos de aminoácidos dentro de un péptido, se pueden analizar los análogos que comprenden residuos de aminoácidos y verificar sus motivos conformacionales, por medio del gráfico de Ramachandran (véase Hruby y Nikiforovich, ant.), entre otras técnicas conocidas.
25

La actividad de inhibición de la activación del complemento de los análogos de compstatina y los peptidomiméticos se puede analizar mediante diversos ensayos conocidos en la técnica. En una realización preferida se usa el ensayo descrito en el ejemplo 2. En la patente de EE.UU. 6.319.897 se expone una lista no exhaustiva de otros ensayos, incluidos, entre otros, (1) unión del péptido a C3 y fragmentos de C3; (2) varios ensayos hemolíticos; (3) medición de la escisión de C3 mediada por la C3 convertasa; y (4) medición de la escisión del factor B por el factor D.
30

Los péptidos y peptidomiméticos descritos en el presente documento son de utilidad práctica para cualquier fin para el que se use la propia compstatina, como se conoce en la técnica. Dichos usos incluyen, entre otros: (1) inhibición de la activación del complemento en el suero de un paciente (humano o animal); (2) inhibición de la activación del complemento que se produce durante el uso de órganos o implantes artificiales (p. ej., recubriendo o tratando de otro modo el órgano o implante artificial con un péptido de la invención)M (3) inhibición de la activación del complemento que se produce durante la derivación extracorpórea de fluidos fisiológicos (sangre, orina) (p. ej.,
35 revistiendo los tubos a través de los cuales se derivan los fluidos con un péptido de la invención); y (4) en la detección selectiva de bibliotecas de moléculas pequeñas para identificar otros inhibidores de la activación de compstatina (p. ej., ensayos de alto rendimiento de fase líquida o sólida diseñados para medir la capacidad de un compuesto de prueba para competir con un análogo de compstatina por la unión a C3 o a un fragmento de C3).
40

Se proporcionan los ejemplos siguientes para describir la invención con mayor detalle. Con ellos se pretende ilustrar, no limitar, la invención.
45

Ejemplo 1

Síntesis peptídica

La síntesis y la purificación peptídicas se realizaron como describen Sahu y col., 1996, ant., y Sahu y col., 2000, ant. En resumen, los péptidos se sintetizaron en un sintetizador peptídico de Applied Biosystem (modelo 431A) usando una resina de Fmoc amida y grupos protectores de cadena lateral estándar. Los péptidos se separaron de la resina mediante incubación durante 3 horas a 22 °C con una mezcla de disolventes que contiene fenol al 5 %, tianisol al 5 %, agua al 5 %, etanodiol al 2,5 % y ácido trifluoroacético (TFA) al 82,5 %. La mezcla de reacción se filtró a través de un embudo fritado, se precipitó con éter frío, se disolvió en acetonitrilo al 50 % que contiene TFA al 0,1 % y se liofilizó. Los péptidos en bruto obtenidos tras la escisión se disolvieron en acetonitrilo al 10 % que contiene TFA al
50 0,1 % y se purificó usando una columna de C-18 de fase inversa (Waters, Milford, MA). Se realizó oxidación con disulfuro mediante un procedimiento de ciclación sobre resina usando el reactivo trifluoroacetato de talio (III). Este procedimiento elimina las etapas de oxidación en solución diluida y la posterior concentración que requiere tiempo de las etapas de liofilización antes de la HPLC de fase inversa. Usando este procedimiento, no existía formación de
55

multímero y se obtuvo un nivel elevado (~90%) de material ciolizado u oxidado completamente desprotegido. La identidad y la pureza de todos los péptidos se confirmaron mediante espectroscopia de masas con desorción con láser y HPLC.

Ejemplo 2

5 **Ensayos de inhibición del complemento**

La actividad inhibidora de la compstatina y sus análogos sobre el sistema del complemento se determinó midiendo su efecto sobre la activación del sistema del complemento mediante inmunocomplejos. La inhibición de la activación del complemento se evaluó midiendo la inhibición de la fijación de C3 a complejos de ovoalbúmina-anti-ovoalbúmina en plasma humano normal. Los pocillos de microtitulación se revistieron con 50 µl de ovoalbúmina (10 mg/ml) durante 2 horas a 25 °C (durante la noche a 4 °C). Los pocillos se saturaron con 200 µl de BSA a 10 mg/ml durante 1 hora a 25 °C y, después, se añadió un anticuerpo de conejo anti-albúmina para formar un inmunocomplejo mediante el cual se puede activar el complemento. A cada pocillo se añadieron directamente treinta microlitros de péptidos a varias concentraciones, seguidos de 30 µl de una dilución 1:80 de plasma humano. Tras una incubación de 30 minutos, el C3b/iC3b unido se detectó usando un anticuerpo anti-C3 humano conjugado con HRP. El color se desarrolló añadiendo sustrato de ABTS peroxidasa y la densidad óptima se midió a 405 nm. La concentración del péptido que causa una inhibición del 50 % del depósito de C3b/iC3b se tomó como la CI₅₀ y se usó para comparar las actividades de varios péptidos.

La presente invención no está limitada a las realizaciones descritas y de ejemplo anteriormente, pero se pueden realizar variaciones y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

20 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA
 <120> ANÁLOGOS DE COMPSTATINA CON ACTIVIDAD MEJORADA
 <130> P040361EP
 <140> EP 03759343.1 <141> 2003-09-22
 <150> US 60/412220 <151> 2002-09-20
 <160> 15
 <170> SeqWin99, versión 1.02

<210> 1
 30 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Construcción sintética

<220>
 <221> misc_feature
 <222> 13
 40 <223> Extremo COOH de Thr sustituida por CONH₂

<400> 1

Ile Cys Val Val Gln Asp Trp Gly His His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

10 <220>

<221> mod_res

<222> 1

<223> acetilación

<220>

15 <221> misc_feature

<222> 13

<223> Extremo COOH de Thr sustituida por CONH₂

<400> 2

Ile Cys Val Val Gln Asp Trp Gly His His Arg Cys Thr
1 5 10

20

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

30 <220>

<221> mod_res

<222> 1

<223> acetilación

<220>

<221> misc_feature

<222> 13

<223> Extremo COOH de Thr sustituida por CONH₂

5

<400> 3

Ile Cys Val Tyr Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 4

<211> 13

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<220>

<221> mod_res

<222> 1

<223> acetilación

20

<400> 4

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 5

<211> 13

25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

30

<220>

<221> mod_res

<222> 1

<223> acetilación

35

<220>

<221> misc_feature

<222> 13

<223> Extremo COOH de Thr sustituida por CONH₂

5

<400> 5

Ile Cys val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 6

<211> 13

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<220>

<221> mod_res

<222> 1

<223> acetilación

20

<220>

<221> mutagen

<222> 13

<223> Thr = D-Thr en lugar de L-Thr

25

<400> 6

Ile Cys val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr

1

5

10

<210> 7

30 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

<222> 1

5 <223> acetilación

<220>

<221> mutagen

<222> 4

10 <223> Ala = 2-naftilalanina

<220>

<221> misc_feature

<222> 13

15 <223> Extremo COOH de Thr sustituida por CONH₂

<400> 7

Ile Cys Val Ala Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

20 <210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

30 <222> 1

<223> acetilación

<220>

<221> mutagen

35 <222> 4

<223> Ala = 2-naftilalanina

<400> 8

Ile Cys Val Ala Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 9

5 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

<222> 1

15 <223> acetilación

<220>

<221> mutagen

<222> 4

20 <223> Ala = 2-naftilalanina

<400> 9

Ile Cys Val Ala Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 10

25 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

30 <223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

<222> 1

35 <223> acetilación

<220>

<221> mutagen

<222> 4

5 <223> Gly = ácido 2-indanilglicina carboxílico

<220>

<221> misc_feature

<222> 13

10 <223> Extremo COOH de Thr sustituida por CONH₂

<400> 10

Ile Cys Val Gly Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 11

15 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

<222> 1

25 <223> acetilación

<220>

<221> mutagen

<222> 4

30 <223> Gly = ácido 2-indanilglicina carboxílico

<400> 11

Ile Cys Val Gly Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
 1 5 10

<210> 12

35 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

<222> 1

10 <223> acetilación

<220>

<221> mutagen

<222> 4

15 <223> Trp = dihidrotriptófano

<400> 12

Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 13

20 <211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> Construcción sintética

<220>

<221> mod_res

<222> 1

30 <223> acetilación

<220>

<221> mutagen

<222> 4

35 <223> Phe = benzoilfenilalanina

ES 2 373 649 T3

<400> 13

Ile Cys Val Phe Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr
1 5 10

<210> 14

<211> 16

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

10

Gly Ile Cys Val Trp Gln Asp Trp Gly Ala His Arg Cys Thr Ala Asn
1 5 10 15

<400>

14

<210> 15

<211> 13

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

20

<220>

<221> misc_feature

<222> 1

<223> xaa = Ile, val, Leu, Ile acetilada, val acetilada, Leu acetilada o dipéptido Gly-Ile

25

<220>

<221> misc_feature

<222> 4

<223> Xaa = Trp o un análogo peptídico o no peptídico de Trp

30

<220>

<221> misc_feature

<222> 9

<223> Xaa = His, Ala, Phe o Trp

35

<220>

<221> misc_feature

<222> 13

5 <223> Xaa = L-Thr, D-Thr, Ile, val, Gly o un tripéptido que comprende Thr-Ala-Asn, y el extremo COOH del residuo terminal está opcionalmente reemplazado con CONH₂

<400> 15

Xaa Cys Val xaa Gln Asp Trp Gly Xaa His Arg Cys Xaa
1 5 10

10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que inhibe la activación del complemento, que comprende un péptido que tiene una secuencia:

Xaa1 Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Trp - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEC ID N°:15); en la que:

Xaa1 es Ile, Val, Leu, Ac-Ile, Ac-Val, Ac-Leu o un dipéptido que comprende Gly-Ile;

Xaa2 es Trp o un análogo de Trp;

Xaa3 es His, Ala, Phe o Trp;

Xaa4 es Thr, Thr, Ile, Val, Gly, o un tripéptido que comprende Thr-Ala-Asn, en la que un -OH en carboxi terminal de cualquiera de L-Thr, D-Thr, Ile, Val, Gly o Asn es opcionalmente sustituido por NH₂; y los dos residuos de Cys están unidos por un puente disulfuro, en la que

(a) el análogo de Trp en Xaa2 es un anillo aromático bicíclico sustituido o insustituido o dos o más anillos aromáticos monocíclicos sustituidos o insustituidos; o

(b) el análogo de Trp en Xaa2 se selecciona del grupo que consiste en 2-naftilalanina, 1-naftilalanina, ácido carboxílico de 2-indanilglicina, dihidrotriptófano y benzoilfenilalanina; o

(c) el análogo de Trp en Xaa2 es un indol, naftilo o dibenzoilo sustituido o insustituido; o

(d) Xaa1 es Ac-Ile, Xaa2 es Trp o un análogo de Trp que es un indol, naftilo o dibenzoilo sustituido o insustituido, Xaa3 es Ala y Xaa4 es L-treonina o D-treonina.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que Xaa1 es Ac-Ile.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que Xaa3 es Ala.

4. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12 y SEC ID N° 13.

5. El compuesto de la reivindicación 1(a), 1(b) o 1(c), en el que Xaa1 es un dipéptido Gly-Ile, y Xaa 4 es un tripéptido Thr-Ala-Asn.

6. El compuesto de la reivindicación 5, que comprende un péptido que tiene la SEC ID N° 14.

7. Una molécula de ácido nucleico aislado que codifica uno o más péptidos que inhiba la activación del complemento, en el que el péptido comprende una secuencia:

Xaa1 Cys - Val - Xaa2 - Gln - Asp - Trp - Gly - Xaa3 - His - Arg - Cys - Xaa4 (SEC ID N°:15); en la que:

Xaa1 es Ile, Val, Leu o un dipéptido que comprende Gly-Ile;

Xaa2 es Trp;

Xaa3 es His, Ala, Phe o Trp; y

Xaa4 es L-Thr, Ile, Val, Gly o un tripéptido que comprende Thr-Ala-Asn;

en la que los dos residuos de Cys están unidos por un puente disulfuro.

8. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 7, que codifica un péptido en el que Xaa3 es Ala.

9. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 8, que codifica un péptido que comprende la SEC ID N° 14.

10. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 9, que codifica un concatémero de dos o más de un péptido que comprende la SEC ID N° 14, en el que el concatémero codificado puede ser escindido por hidrazina para formar una multiplicidad de péptidos que comprenden la SEC ID N° 14.

11. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 7.

12. Una célula que comprende el vector de expresión de la reivindicación 11.

13. La célula de la reivindicación 12, que es una célula bacteriana, fúngica, vegetal, de insecto o de mamífero.

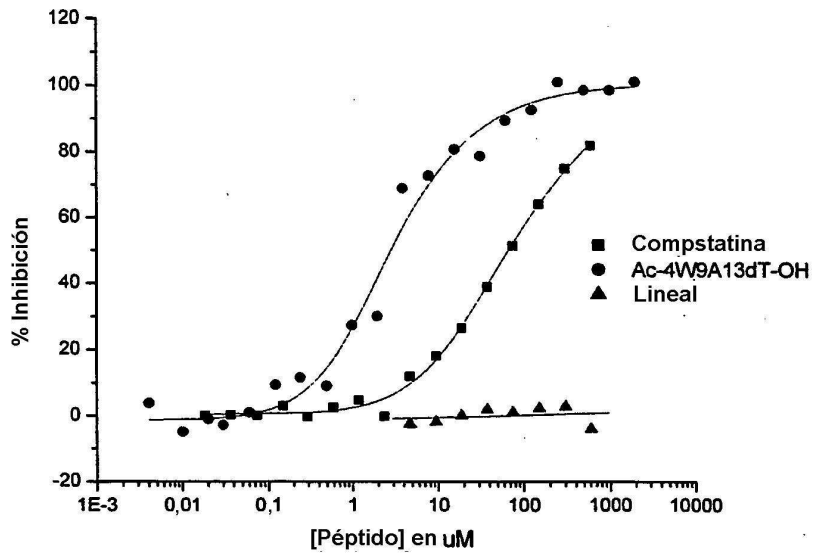


FIG. 1

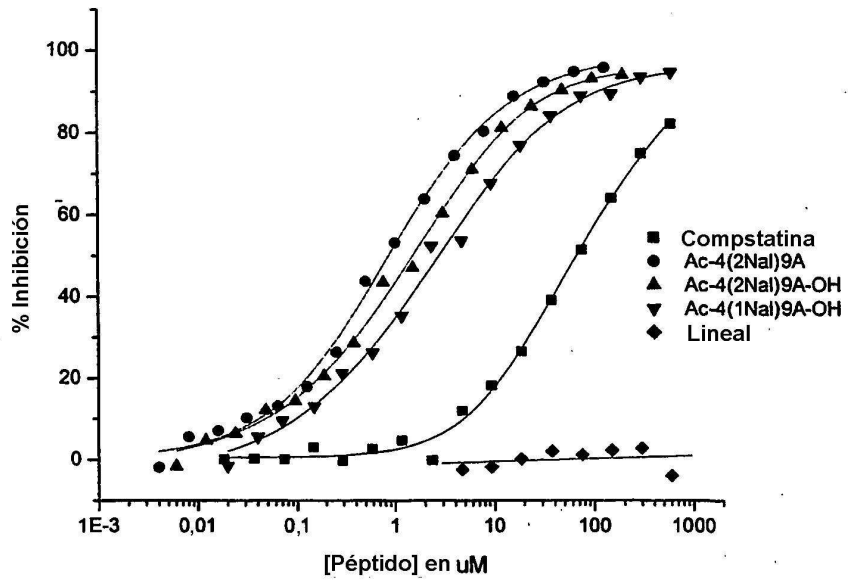


FIG. 2

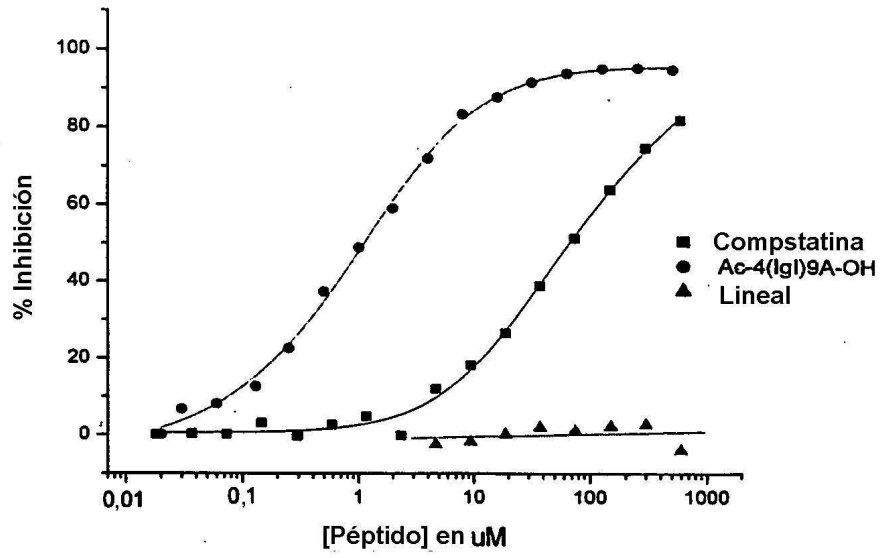


FIG.3

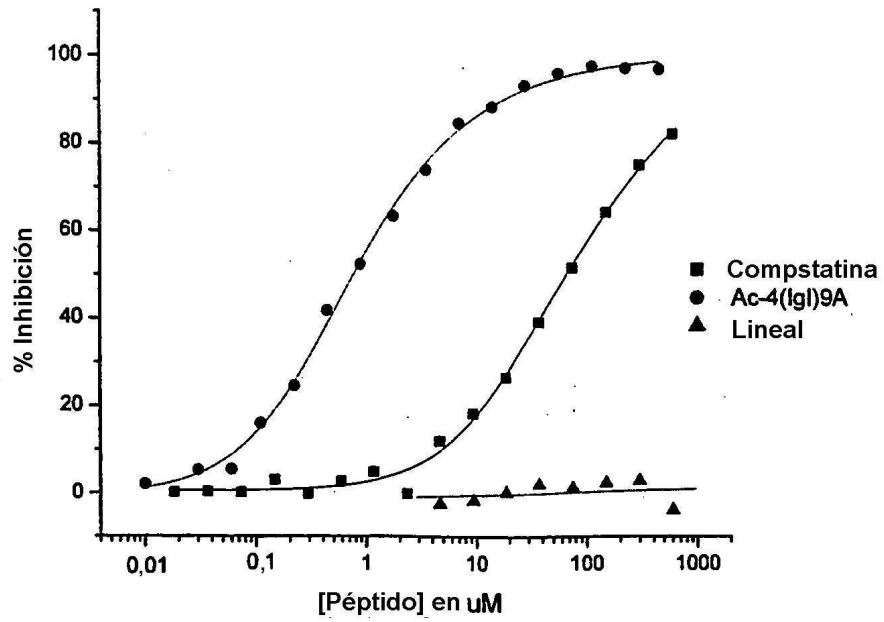


FIG. 4

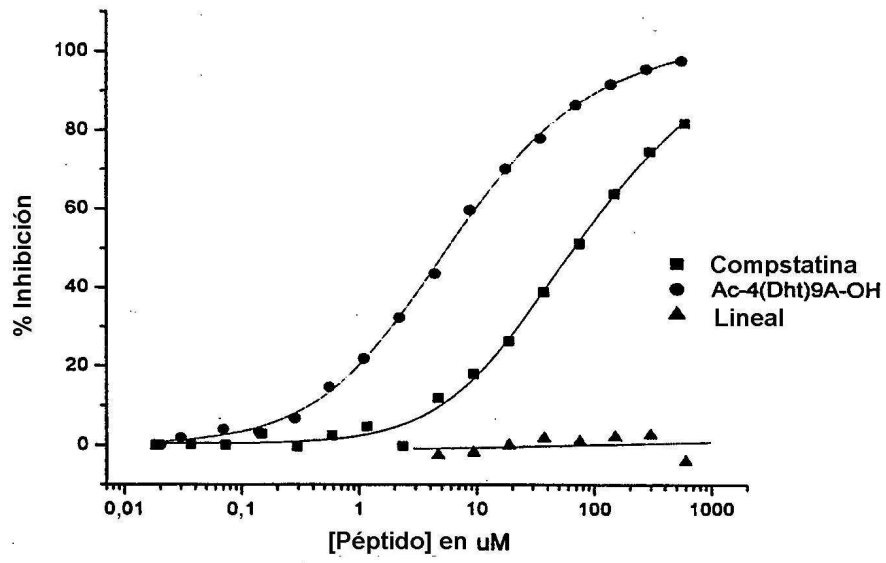


FIG. 5

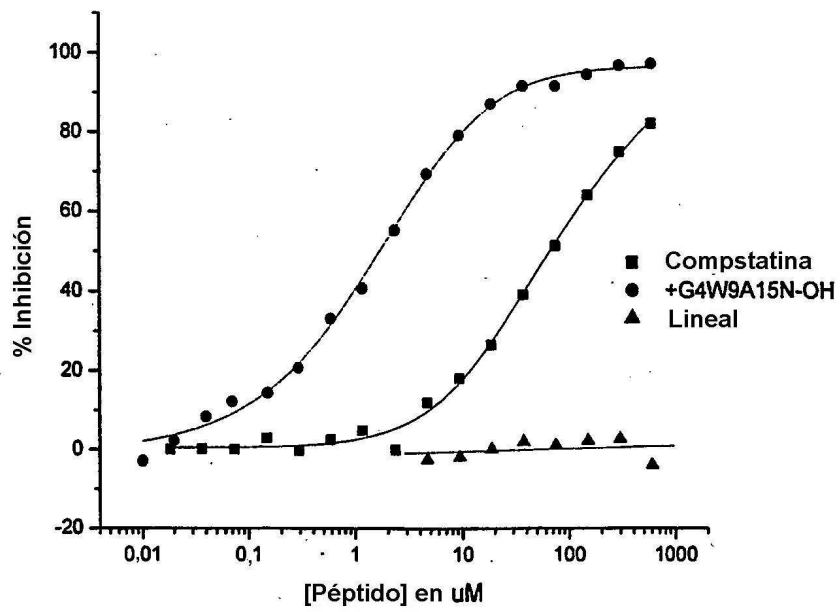


FIG. 6

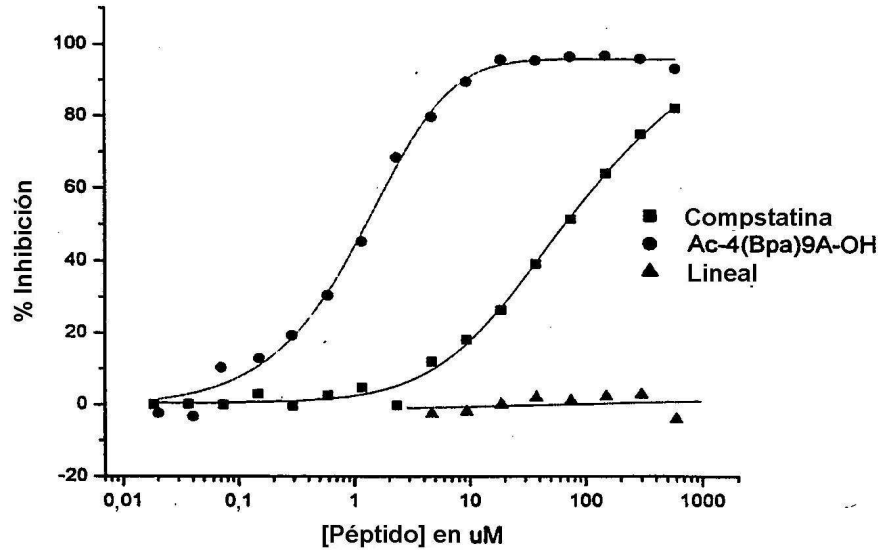


FIG. 7

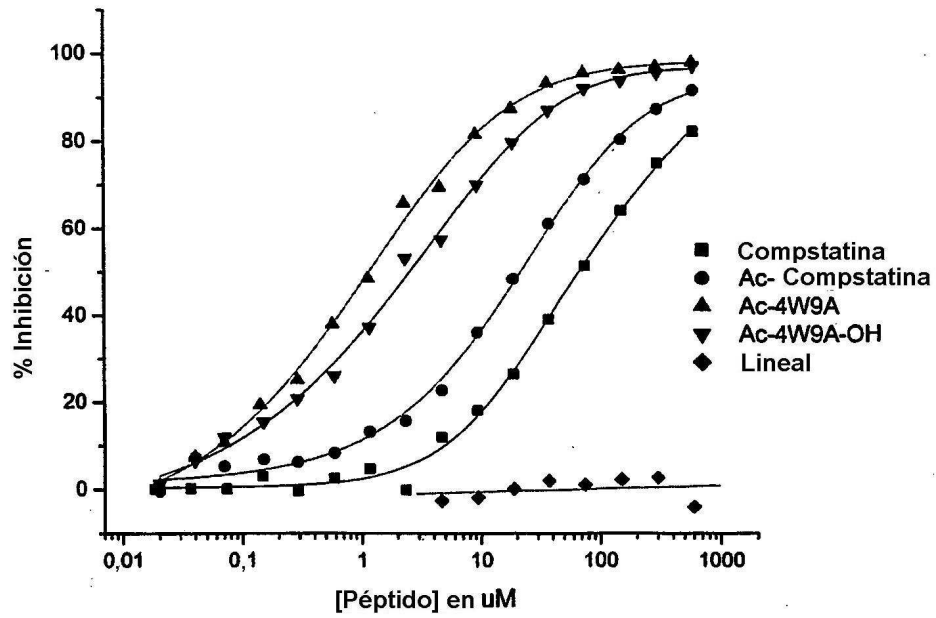


FIG. 8