

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 171**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

C07K 14/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.02.2012 PCT/EP2012/051708**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.08.2012 WO12104355**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.02.2012 E 12707710 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016 EP 2670420**

54 Título: **Agente antiviral que contiene lectinas de muérdago recombinantes**

30 Prioridad:

01.02.2011 DE 102011003478

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

31.01.2017

73 Titular/es:

**MELEMA PHARMA GMBH (100.0%)
Rothenbaumchaussee 54
20148 Hamburg, DE**

72 Inventor/es:

**LENTZEN, HANS y
WITTHOHN, KLAUS**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 599 171 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

Agente antiviral que contiene lectinas de muérdago recombinantes

5 La invención se refiere a un agente antiviral que contiene lectinas de muérdago recombinantes para el tratamiento de infecciones virales así como a un fármaco y/o una composición farmacéutica para el tratamiento de infecciones virales.

10 En una infección viral penetran virus en un organismo y allí se multiplican. La reacción del organismo consecuencia de ello puede dar la cara, por lo general, como una enfermedad infecciosa. En el ser humano, múltiples enfermedades pueden ser causadas por virus. Actualmente, en cuanto a la prevención solo existe la posibilidad de vacunaciones protectoras frente a una cantidad limitada de infecciones virales. Ya que los virus, a diferencia de las bacterias, no son células, tampoco se pueden destruir como estas. Únicamente es posible obstaculizar o impedir una infección viral y la multiplicación del virus. A continuación se explica una infección por virus *Herpes simplex* a modo de ejemplo de la pluralidad de las posibles enfermedades virales.

15 Los virus *Herpes simplex* están extendidos a nivel mundial y el ser humano, como reservorio, es su único hospedador natural. En Alemania se han podido comprobar en del 84 al 92 % de las personas, en un examen de muestra aleatoria normalizada en cuanto a la edad, anticuerpos frente a virus *Herpes simplex*. Las enfermedades causadas por el virus *Herpes simplex* pertenecen a las enfermedades infecciosas cutáneas más frecuentes. La mayoría de las infecciones aparecen en la cara y en la zona genital. En general, se sabe que el virus *Herpes simplex* es una infección viral recurrente que está caracterizada por la manifestación de acumulaciones individuales o múltiples de pequeñas vesículas sobre la piel o las membranas mucosas.

20 Existen dos tipos primarios del virus *Herpes simplex* (VHS) - VHS 1 y VHS 2. Se diferencian ligeramente en relación con sus cuadros patológicos y la localización de la enfermedad. Después de la aparición y la localización de los síntomas de la enfermedad se diferencian infecciones por VHS clínicamente distintas, de las cuales las más importantes son el *Herpes simplex labialis* (herpes labial) y el *Herpes simplex genitalis*. Tras una primoinfección, el virus siempre permanece en un estado de reposo (latencia) durante toda la vida del organismo, lo que se denomina infección persistente. La terapia de infecciones por VHS no es capaz de acabar con esta persistencia, sino que intenta evitar la multiplicación del virus después de una reactivación que se haya producido desde el estadio de reposo.

35 Para el tratamiento de infecciones virales se aplican, entre otras cosas, principios activos que se resumen en la denominación viroestáticos. Estos fármacos intervienen en diferentes puntos en la multiplicación del virus y evitan así una propagación adicional del patógeno. Los viroestáticos aplicados con frecuencia para combatir virus *Herpes simplex* en herpes labial pertenecen al grupo de los denominados análogos de nucleósidos. Inhiben la síntesis de ADN y, por tanto, la multiplicación del virus. Ya que los análogos de nucleósidos intervienen siempre en la multiplicación del virus, funcionan solo en caso de virus que se reproducen activamente. Entre estos análogos de nucleósidos ha resultado eficaz el compuesto conocido como aciclovir, sin embargo, presenta también algunos efectos secundarios. La eliminación de aciclovir tiene lugar a través del riñón. Se han conocido problemas renales en caso de dosis grandes, administradas de forma rápida y por vía intravenosa, ya que entonces puede cristalizar el aciclovir en los riñones. Además, el aciclovir también se puede incorporar en el ADN celular y representa, por tanto, un mutágeno cromosómico. Además se pueden desarrollar resistencias. A pesar de que los análogos de nucleósidos poseen un gran valor, sigue existiendo la necesidad de medicaciones mejoradas para poder tratar mejor los síntomas que aparecen por brotes de infecciones virales. Además existen algunos virus que favorecen la generación de cáncer cuando causan una infección latente a lo largo de mucho tiempo. Así se han relacionado por ejemplo virus de papiloma con el carcinoma cervical, el virus de Epstein-Barr con el carcinoma nasofaríngeo.

50 Los extractos de muérdago se emplean terapéuticamente desde hace cientos de años. En particular en la terapia del cáncer se han empleado preparaciones de muérdago con diferente éxito (Bocci V 1993 J Biol Regulators and Homeostatic Agents 7(1): 1 - 6; Gabius H-J, Gabius S, Joshi S *et al.* 1993 Planta Med 60: 2 - 7; Gabius H-J & Gabius S 1994 PZ 139: 9 - 16; Ganguly C & Das S 1994 Chemotherapy 40: 272 - 278, Hajto T, Hostanska K, Gabius H_J 1989 Cancer Res 49: 4803 - 4808, Hajto T, Hostanska K, Frei K *et al.* 1990 Cancer Res. 50: 3322 - 3326). Se ha mostrado que los efectos terapéuticos son causados en particular por las denominadas lectinas de muérdago (viscumina, aglutinina de *Viscum album*, VAA). A este respecto se les adscribe a las lectinas de muérdago, aparte de un efecto citotóxico, también una inmunestimulación inespecífica, cuyos efectos positivos se aprovechan para la terapia de pacientes con tumores. Distintas investigaciones con lectinas de muérdago *in vitro* (Hajto *et al.*, 1990 (anteriormente); Männel D N, Becker H, Gundt A *et al.* 1991 Cancer Immunol Immunother 33: 177 - 182; Beuth J, Ko K L, Tunggal L *et al.* 1993 Drug Res 43: 166 - 169) e *in vivo* (Hajto T 1986 Oncology 43 suppl 1: 51 - 65; Hajto *et al.*, 1989 (anteriormente), Beuth J, Ko H L, Gabius H-J *et al.* 1991 In vivo 5: 29 - 32; Beuth J, Ko H L, Gabius H-J *et al.* 1992 J Clin Invest 70: 658 - 661), así como estudios clínicos (Beuth *et al.*, 1992 (anteriormente)) mostraron una mayor liberación de citocinas inflamatorias (TNF-alfa, IL-1, IL-6) y una activación de componentes celulares del sistema inmunitario (linfocitos TH, linfocitos NK).

65

Solo pocos estudios han examinado hasta ahora la eficacia antiviral de lectinas de muérdago nativas que, sin embargo, representan extractos de lectinas de muérdago. Karagöz *et al.* (Phytother. Res. 17, 560-562, 2003) han examinado hasta ahora la eficacia antiviral de extractos del muérdago europeo (*Viscum album L.*). Karagöz *et al.* investigaron si distintos extractos de muérdago presentan una eficacia antiviral sobre el virus de la parainfluenza humano tipo 2 (VPIH-2). A este respecto se examinaron los siguientes extractos de muérdago: un extracto acuoso, un extracto etanólico, un extracto de éter de petróleo, un extracto de cloroformo y un extracto de acetona. El sistema de ensayo consistía en células Vero, el VPIH-2 humano y los distintos extractos de muérdago. Se llevaron a cabo ensayos de citotoxicidad y ensayos en placa. Se mostró que el extracto acuoso presentaba un efecto significativo frente a la replicación de VPIH-2, mientras que el extracto de cloroformo poseía una moderada actividad. Los restantes extractos no mostraron ningún efecto significativo sobre la replicación de VPIH-2. En el caso de los extractos de muérdago descritos en el estado de la técnica se trata de mezclas de muchas sustancias de origen vegetal, cuyos ingredientes no están descritos ni tampoco caracterizados. Por tanto, con las investigaciones de Karagöz *et al.* no queda aclarado qué sustancias en el extracto acuoso presentaban actividad frente a la replicación de VPIH-2. Los extractos vegetales son heterogéneos en la composición de sus ingredientes. Por este motivo existen dificultades para ajustar extractos en relación con un efecto farmacológico a determinadas concentraciones de uno o varios ingredientes. Mediante análisis del extracto de muérdago, hasta ahora se han podido identificar tres lectinas de muérdago (ML-I, ML-II, ML-III) con diferentes pesos moleculares y especificidades de unión de azúcar. Se ha podido mostrar que el efecto inmunoestimulador del extracto de muérdago se debe a la ML-I. La lectina ML-I está compuesta de, en cada caso, dos cadenas A y B glucosiladas (MLA o MLB). La cadena A es responsable de una inactivación enzimática de ribosomas (Endo *et al.*, 1988), mientras que la cadena B interviene en la unión de hidratos de carbono. Las dos cadenas están enlazadas entre sí mediante puentes disulfuro. Los monómeros de lectina de muérdago resultantes se pueden condensar, con configuración de enlaces no covalentes, hasta dar dímeros. Entre tanto también es posible producir de forma recombinante la lectina de muérdago biológicamente activa. El documento EP 0 751 221 describe la preparación pura de polipéptidos de lectina de muérdago como sustancia estructuralmente homogénea, preparándose, partiendo de las secuencias génicas de la lectina de muérdago, cadenas individuales recombinantes de alta pureza (cadena A, cadena B) que se pueden reasociar *in vitro* y dan así una holoproteína de lectina de muérdago recombinante que en cuanto a química de proteínas, enzimática y estructuralmente es homogénea, la denominada aviscumina. De acuerdo con el documento EP 0751221, el polipéptido de lectina de muérdago recombinante es adecuado como holoproteína, como cadena parcial y en forma de subfragmentos para fines terapéuticos y está comprendido también de acuerdo con la invención.

Hasta ahora se han empleado lectinas de muérdago recombinantes en particular en el tratamiento de enfermedades tumorales. Ciertamente, en el documento EP 0 751 221 se menciona que serían concebibles lectinas de muérdago recombinantes incluso para el tratamiento de enfermedades infecciosas, sin embargo, no se desvela ningún tipo de indicio acerca de si es eficaz un tratamiento de infecciones virales con lectinas de muérdago recombinantes.

El objetivo de la presente invención consiste en facilitar agentes antivirales con los que se puedan tratar de forma eficaz infecciones virales. Otro objetivo de la presente invención es la facilitación de un fármaco así como composiciones farmacéuticas para el tratamiento de infecciones virales.

El objetivo se resuelve facilitando un agente antiviral junto con la facilitación de un fármaco así como una composición farmacéutica, conteniendo estas lectinas de muérdago recombinantes para el tratamiento y la profilaxis de infecciones virales, comprendiendo las lectinas de muérdago recombinantes las siguientes secuencias de aminoácidos. Preferentemente, el agente antiviral de acuerdo con la invención comprende la cadena A de lectina de muérdago (MLA) o la cadena B de lectina de muérdago (MLB), en cada caso en solitario o conjuntamente, también en forma de dímeros (véase, por ejemplo, el documento EP 0 751 221 o el documento EP 1 051 495).

El polipéptido de lectina de muérdago recombinante de la cadena A de lectina de muérdago comprende las siguientes secuencias: SEQ ID NO. 1 - 3, incluyendo sus isoformas o un fragmento funcional de las mismas.

El polipéptido de lectina de muérdago recombinante de la cadena B de lectina de muérdago comprende las siguientes secuencias SEQ ID NO. 4 - 12, incluyendo sus isoformas o un fragmento funcional de las mismas.

(a continuación en conjunto "lectinas de muérdago recombinantes")

Además, preferentemente, la aviscumina es un heterodímero compuesto por las secuencias SEQ ID NO. 1 y SEQ ID NO. 4.

La invención se refiere a un agente antiviral que contiene lectina de muérdago recombinante para la aplicación en infecciones virales o para prevenir infecciones virales, estando seleccionada la lectina de muérdago recombinante del grupo de las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO. 1 - 12 o comprendiendo partes y fragmentos de los mismos o una combinación de los mismos.

La expresión "fragmento funcional" define, en relación con la presente invención, fragmentos de los polipéptidos mencionados que poseen la misma función biológica que el polipéptido representado anteriormente con la respectiva secuencia de aminoácidos.

La expresión “misma función biológica” describe en este contexto, por ejemplo, que fragmentos o derivados de los polipéptidos inducen las mismas señales en una célula que los péptidos mencionados. Son ejemplos de fragmentos dominios peptídicos con funciones definidas. La “misma función biológica” comprende también la citotoxicidad, inmunoestimulación (tanto del sistema inmunitario nativo como adaptativo), estimulación de la liberación de citocinas, antigenicidad, la inducción de la expresión o la activación de marcadores de superficie, la inducción de apoptosis o la estimulación por endorfinas.

Por “actividad biológica de la lectina de muérdago recombinante” se entiende en el presente documento cualquier actividad biológica del espectro de todas las actividades biológicas de la lectina de muérdago recombinante. Una función de este tipo es, por ejemplo, el efecto farmacológico de la lectina de muérdago recombinante.

Los exámenes de monómeros de ML-I dieron 25 isoformas distintas que se basan en diferentes combinaciones de distintas cadenas A y B así como diferentes estados de glucosilación de las cadenas.

Por tanto, la presente invención se refiere asimismo a un polipéptido de lectina de muérdago o un fragmento del mismo que comprende la variabilidad de secuencia de las distintas cadenas de MLA y MLB con respecto a las secuencias SEQ ID NO. 1 - 12 de acuerdo con la invención.

Preferentemente, el agente antiviral de acuerdo con la invención contiene un polipéptido de lectina de muérdago recombinante con las secuencias SEQ ID NO. 1 - 12 o un fragmento funcional del mismo o una combinación discrecional de los mismos.

Tal como ya se ha mencionado anteriormente, se han usado lectinas de muérdago recombinantes hasta ahora sobre todo en el tratamiento de enfermedades tumorales. Sin embargo, hasta el día de hoy no se ha mostrado que las lectinas de muérdago recombinantes tengan un efecto sobre las infecciones virales. Sorprendentemente, la invención ha mostrado que las lectinas de muérdago recombinantes se pueden emplear de forma eficaz contra infecciones virales, tal como se muestra de forma asombrosa en los ejemplos. Las secuencias de acuerdo con la invención, en particular la aviscumina, ya presentan una citotoxicidad de 0,5 ng/placa.

De forma particularmente ventajosa, las lectinas de muérdago recombinantes no presentan, frente a las lectinas de muérdago en el estado de la técnica, ningún tipo de impureza, de tal manera que una menor dosis presenta ya una mayor eficacia. Además, gracias a las lectinas de muérdago recombinantes se consigue una alta precisión de dosis, de tal manera que se permite un tratamiento antiviral específico (local) exitoso.

Por tanto, el agente antiviral de acuerdo con la invención se usa para el tratamiento de una de las siguientes infecciones virales: infección por virus *Herpes simplex*, infección por adenovirus, infección por virus de la polio, infección por poxvirus, infección por parvovirus, infección por papovavirus, infección por hepadnavirus, infección por ortomiovirus, infección por virus de papiloma, infección por paramixovirus, infección por coronavirus, infección por picornavirus, infección por reovirus, infección por togavirus, infección por flavivirus, infección por arnavirus, infección por rbdovirus, infección por retrovirus.

Además, la invención se refiere al tratamiento de verrugas víricas cutáneas, verrugas anogenitales, verrugas de la mucosa y tumores malignos tales como carcinoma de cuello de útero, carcinoma de pene y de vulva, en particular durante una infección por virus de papiloma (VPH).

Además, la invención se refiere a un fármaco para el tratamiento de infecciones virales que contiene el polipéptido de lectina de muérdago recombinante, dado el caso junto con un vehículo farmacéuticamente compatible. Son conocidos por el experto ejemplos de vehículos farmacológicamente compatibles particularmente adecuados y comprenden soluciones salinas tamponadas, agua, emulsiones tales como, por ejemplo, emulsiones de aceite/agua, distintos tipos de detergentes, soluciones estériles, etc. Se pueden formular fármacos que comprendan tales vehículos mediante métodos convencionales conocidos. Se puede administrar estos fármacos a un individuo en una dosis adecuada. La administración se puede realizar por vía local, oral o parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, local, intranasal, intrabronquial o intradérmica o a través de un catéter en un punto en una arteria. El tipo de dosificación se determina por el médico a cargo del caso de forma correspondiente a los factores clínicos. El experto sabe que el tipo de la dosificación depende de distintos factores, tales como, por ejemplo, el tamaño corporal o el peso, la superficie corporal, la edad, el sexo o la salud general del paciente, pero también del agente que se va a administrar en especial, la duración y el tipo de la administración y de otros medicamentos que posiblemente se administran en paralelo.

Además, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende los polipéptidos de lectinas de muérdago recombinantes de acuerdo con la invención. La composición se puede administrar por vía local o sistémica. Las preparaciones para una administración parenteral comprenden soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Son ejemplos de disolventes no acuosos propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como por ejemplo aceite de oliva y compuestos de éster orgánicos tales como por ejemplo oleato de etilo, que son adecuados para inyecciones. Los vehículos acuosos comprenden agua, soluciones alcohólicas-acuosas, emulsiones, suspensiones, soluciones salinas y medios tamponados. Los vehículos

parenterales comprenden soluciones de cloruro sódico, dextrosa Ringer, dextrosa y cloruro sódico, Ringer-lactato y aceites unidos. Los vehículos intravenosos comprenden, por ejemplo, agentes de complementación de líquidos, nutrientes y electrolitos (tales como por ejemplo los que se basan en Ringer-dextrosa). Además, la composición de acuerdo con la invención puede comprender conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, compuestos antimicrobianos, antioxidantes y complejantes. Además pueden estar contenidos compuestos tales como, por ejemplo, interleucinas, interferonas o un agente inmunomodulador inespecífico. Así mismo pueden estar contenidos citostáticos, antibióticos y combinaciones de los mismos.

La composición farmacéutica se usa de acuerdo con la invención en el tratamiento de las infecciones virales que se han mencionado anteriormente.

Preferentemente, la composición de acuerdo con la invención está presente como solución, gel o crema.

Además, la invención se refiere al uso de una lectina de muérdago recombinante para la preparación de un agente antiviral para el tratamiento de las infecciones virales que se han mencionado anteriormente. Preferentemente, el tratamiento comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la lectina de muérdago recombinante a un ser humano que ha enfermado o que previsiblemente enfermará por una infección.

La eficacia de la invención en el tratamiento de infecciones virales se explica a modo de ejemplo mediante la siguiente investigación.

Los siguientes ejemplos sirven para explicar la invención, sin embargo, sin limitar la invención a estos ejemplos.

Ejemplos:

Se incubaron células Vero (células renales de monos verdes africanos) y células BGM (células renales de monos verdes de Buffalo) en el marco de una serie de dilución \log_{10} con virus *Herpes simplex* de tipo 1 (VHS-1) durante 2 horas. Después de la infección de las células se retiró el virus. La lectina de muérdago recombinante se diluyó con medio de cultivo celular que se usó tanto con como sin sustancia interferentes. Como sustancias interferentes se usaron suero bovino fetal al 10 % y albúmina sérica bovina al 3 % con eritrocitos de oveja. Por pocillo se aplicaron 200 μ l de la solución con lectina de muérdago recombinante sobre las células infectadas. Como control de virus se aplicó medio de cultivo celular sobre las células infectadas. Como control negativo frente a VHS-1 se usó aciclovir (1,5 mmol) en lugar de la lectina de muérdago recombinante. Las células se incubaron a 37 °C \pm 1 °C durante 2-7 días. Después de la incubación se examinaron las células con un microscopio invertido en cuanto a efectos citopáticos (CPE) y se determinó el 50 % de la dosis infecciosa en relación con un cultivo celular DICC₅₀/ml (dosis infecciosa de cultivo tisular, siglas en inglés TCID). Siempre que no eran visibles efectos citopáticos, significaba que se habían inactivado con éxito los virus con la lectina de muérdago recombinante.

Para obtener una impresión más detallada de la reducción del virus se llevó a cabo un ensayo de reducción en placa para determinar la eficacia antiviral de la lectina de muérdago recombinante. Para esto se colocaron las células Vero/células BGM en placas de 12 pocillos. Las células semiadherentes se incubaron con una serie de dilución \log_{10} del VHS-1 (100 μ l por pocillo) durante 2 horas. Después de la infección de las células se eliminó el virus. La lectina de muérdago recombinante se diluyó con medio de cultivo celular con y sin sustancias interferentes) y se mezcló con agarosa caliente 1:1. Como sustancias interferentes se usó suero fetal bovino y eritrocitos de oveja. De la solución que contenía lectina de muérdago recombinante se aplicaron 2 ml sobre las células infectadas. Como control de virus se aplicó medio de cultivo celular sobre las células infectadas. Como control negativo frente a VHS-1 se usó aciclovir (1,5 mmol) en lugar de la lectina de muérdago recombinante. Después de la gelificación de la agarosa se incubaron las células a 37 °C \pm 1 °C durante 7 días. Después del tiempo de incubación se fijaron las células durante 4 horas con metanol que contenía el 4 % de cloruro sódico. Después se tiñeron las células con violeta cristal. Las placas inducidas por virus se recontaron bajo microscopio y se determinó la DICC₅₀/ml.

En el marco de esta investigación se han llevado a cabo las siguientes etapas de validación:

- identificación de título de virus adecuado con la correspondiente línea celular.
- identificación de la concentración de lectina de muérdago recombinante que es tolerada por la correspondiente línea celular mediante medición de la citotoxicidad y la vitalidad.
- identificación de la concentración de lectina de muérdago recombinante que hace que la línea celular sea sensible a una infección por virus.

Resultados:

El examen mostró, sorprendentemente, una eficacia antiviral de lectina de muérdago recombinante contra VHS-1 y contra adenovirus de tipo 5. Una concentración de 50 ng/ml de lectina de muérdago recombinante causó, en el ensayo de suspensión con VHS-1 / células BGM, una reducción del título de virus de 2,43 \log_{10} sin sustancias interferentes y sin el uso de columnas MicroSpin (véase la Tabla 2). Con una concentración de 500 ng/ml de lectina de muérdago recombinante se mostró una reducción del título del virus de 2,57 \log_{10} y \geq 3,29 \log_{10} en caso del uso

de columnas MicroSpin y SFB como sustancia interferente (véase la Tabla 2).

En el ensayo de reducción en placa se mostró una inhibición relativa promedio de la infección por VHS-1 del 17,04 % con una concentración de 0,5 ng/ml de lectina de muérdago recombinante (sin filtración con MicroSpin) o una inhibición relativa promedio de la infección por VHS-1 del 7,41 % con filtración con MicroSpin (véase la Tabla 3).

La inhibición relativa promedio de la infección por adenovirus de tipo 5 en el ensayo de reducción en placa ascendió al 79,7 % con una concentración de 0,5 ng/ml de lectina de muérdago recombinante (sin filtración con MicroSpin) o del 22,2 % con filtración con MicroSpin (véase la Tabla 4).

Tabla1: resultados de los ensayos de citotoxicidad de las células de ensayo

Línea celular	Vero con microSpin	Vero sin microSpin	BGM con microSpin 7 días de incubación	BGM sin microSpin 7 días de incubación
Lectina de muérdago recombinante 5000 ng/ml	citotóxica	citotóxica	n.c.	n.c.
Lectina de muérdago recombinante 500 ng/ml	citotóxica	citotóxica	citotóxica	citotóxica
Lectina de muérdago recombinante 50 ng/ml	citotóxica	citotóxica	negativo	citotóxica
Lectina de muérdago recombinante 5 ng/ml	negativo	citotóxica	negativo	negativo
Lectina de muérdago recombinante 0,5 ng/ml	negativo	negativo	negativo	negativo
Lectina de muérdago recombinante 0,05 ng/ml	negativo	negativo	negativo	negativo
Lectina de muérdago recombinante 0,005 ng/ml	n.c.	n.c.	negativo	negativo
Control negativo	n.c.	negativo	n.c.	negativo

n.c. = no comprobado

Tabla 2: ensayo de eficacia antiviral de lectina de muérdago recombinante con VHS-1, hospedador: células BGM (suspensión celular)

		Virus VHS-1 (DICC ₅₀ /ml)	Reducción de título de virus (log ₁₀) + 95 % de límites de conf.
Control de virus		10 ^{-6,64 +/- 0,46} 10 ^{-6,93 +/- 0,36}	-
Lectina de muérdago recombinante 5 ng/ml	ssi, sin microSpin	10 ^{-6,79 +/- 0,36}	Ninguna reducción de título de virus
	ssi, con microSpin	10 ^{-6,79 +/- 0,36}	Ninguna reducción de título de virus
	SFB, sin microSpin	10 ^{-6,79 +/- 0,54}	Ninguna reducción de título de virus
	SFB, con microSpin	10 ^{-6,64 +/- 0,46}	Ninguna reducción de título de virus
Lectina de muérdago recombinante 50 ng/ml	ssi, sin microSpin	10 ^{-4,21 +/- 0,54}	2,43 +/- 0,71
	ssi, con microSpin	10 ^{-6,36 +/- 0,56}	0,28 +/- 0,72
	SFB, sin microSpin	10 ^{-6,36 +/- 0,54}	0,28 +/- 0,65
	SFB, con microSpin	10 ^{-6,36 +/- 0,46}	0,28 +/- 0,65
Lectina de muérdago recombinante 500 ng/ml	SFB, con microSpin	10 ^{-4,07 +/- 0,49}	2,57 +/- 0,67
		≤ 10 ^{-3,64 +/- 0,28}	≥ 3,29 +/- 0,54

ssi= sin sustancias interferentes

Tabla 3: ensayo en cuanto a eficacia antiviral de lectina de muérdago recombinante, ensayo en placa con VHS-1 sobre células Vero

Dilución de virus		Control de virus	Aciclovir (1,5 mmol)	Lectina de muérdago recombinante		
				0,5 ng/ml sin Spin	0,5 ng/ml con Spin	0,5 ng/ml con Spin
10 ^{-5,0}	Cantidad de placas	> 50, > 50, 6	0, 0, 0	> 50, > 50, >50	10, > 50, > 50	citotóxico
	Valor medio	> 35	0	> 50	> 36	
	DT	n.d.	0	n.d.	n.d.	n.d.
	Infectividad relativa	100	0	100	100	n.d.
	Inhibición relativa	0	100	0	0	n.d.
10 ^{-5,48}	Cantidad de placas	5, 5, 4, 4	0, 0, 0, 0	6, 5, 3, 2	3, 4, 4, 3	citotóxica
	Valor medio	4,5	0	4,0	3,5	
	DT	0,57	0	1,82	0,57	n.d.
	Infectividad relativa	100	0	88,88	77,77	n.d.
	Inhibición relativa	0	100	11,12	22,23	n.d.
10 ^{-5,95}	Cantidad de placas	2, 3, 3, 2	0, 0, 0, 0	1, 2, 1, 2	2, 3, 1, 4	citotóxica
	Valor medio	2,5	0	1,5	2,5	
	DT	0,57	0	0,57	1,29	n.d.
	Infectividad relativa	100	0	60,0	100	n.d.
	Inhibición relativa	0	100	40,0	0	n.d.
Inhibición relativa promedio		n.a	100	17,04	7,41	n.d.

n.d. = no detectable
n.a. = no a valorar

5 Tabla 4: ensayo en cuanto a eficacia antiviral de lectina de muérdago recombinante, ensayo en placa con adenovirus

tipo 5 sobre células BGM

Dilución de virus		Control de virus	Lectina de muérdago recombinante		
			0,5 ng/ml sin Spin	0,5 ng/ml con Spin	0,5 ng/ml con Spin
10 ^{-4,0}	Cantidad de placas	5, 5, 8	2, 3, 0	11, 8, 8	Citotóxica
	Valor medio	6	1,66	9	
	DT	1,73	1,52	1,73	n.d.
	Infectividad relativa	100	27,7	100	n.d.
	Inhibición relativa	0	72,3	0	n.d.
10 ^{-4,48}	Cantidad de placas	3, 4, 2, 3	0, 0, 0, 0	4, 2, 2, 4	Citotóxica
	Valor medio	3	0	3	
	DT	0,81	0	1,15	n.d.
	Infectividad relativa	100	0	100	n.d.
10 ^{-4,95}	Inhibición relativa	0	100	0	n.d.
	Cantidad de placas	1, 1, 2, 2	0, 0, 2, 0	0, 0, 0, 2	Citotóxica
	Valor medio	1,5	0,5	0,5	
	DT	0,57	1,0	1,0	n.d.
	Infectividad relativa	100	33,3	33,3	n.d.
Inhibición relativa	0	66,7	66,7	n.d.	
Inhibición relativa promedio		n.a	79,7	22,2	n.d.

n.d. = no detectable
n.a. = no a valorar

LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Cytavis Biopharma GmbH
- <120> Agente antiviral que contiene lectinas de muérdago recombinantes
- <130> CYT24WO
- 15 <160> 12

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Proteína recombinante de EP0751221

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa puede ser Ile o Leu

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa puede ser Glu o Asp

25

<400> 1

Xaa Tyr Glu Arg Xaa Arg Leu Arg Val Thr His Gln Thr Thr Gly Xaa
 1 5 10 15

Glu Tyr Phe Arg Phe Ile Thr Leu Leu Arg Asp Tyr Val Ser Ser Gly
 20 25 30

Ser Phe Ser Asn Glu Ile Pro Leu Leu Arg Gln Ser Thr Ile Pro Val
 35 40 45

Ser Asp Ala Gln Arg Phe Val Leu Val Glu Leu Thr Asn Gln Gly Gly
 50 55 60

Asp Ser Ile Thr Ala Ala Ile Asp Val Thr Asn Leu Tyr Val Val Ala
 65 70 75 80

Tyr Gln Ala Gly Asp Gln Ser Tyr Phe Leu Arg Asp Ala Pro Arg Gly
 85 90 95

Ala Glu Thr His Leu Phe Thr Gly Thr Thr Arg Ser Ser Leu Pro Phe
 100 105 110

ES 2 599 171 T3

Asn Gly Ser Tyr Pro Asp Leu Glu Arg Tyr Ala Gly His Arg Asp Gln
 115 120 125

Ile Pro Leu Gly Ile Asp Gln Leu Ile Gln Ser Val Thr Ala Leu Arg
 130 135 140

Phe Pro Gly Gly Ser Thr Arg Thr Gln Ala Arg Ser Ile Leu Ile Leu
 145 150 155 160

Ile Gln Met Ile Ser Glu Ala Ala Arg Phe Asn Pro Ile Leu Trp Arg
 165 170 175

Ala Arg Gln Tyr Ile Asn Ser Gly Ala Ser Phe Leu Pro Asp Val Tyr
 180 185 190

Met Leu Glu Leu Glu Thr Ser Trp Gly Gln Gln Ser Thr Gln Val Gln
 195 200 205

His Ser Thr Asp Gly Val Phe Asn Asn Pro Ile Arg Leu Ala Ile Pro
 210 215 220

Pro Gly Asn Phe Val Thr Leu Thr Asn Val Arg Asp Val Ile Ala Ser
 225 230 235 240

Leu Ala Ile Met Leu Phe Val Cys Gly Glu Arg Pro Ser
 245 250

- 5 <210> 2
- <211> 256
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 10 <220>
- <223> Proteina recombinante de EP1051495
- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado
- 15 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (16)..(16)
- <223> Xaa puede ser Asp o Glu
- 20 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (64)..(64)
- <223> Xaa puede ser Gly o Gln
- 25 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (67)..(67)
- <223> Xaa puede ser Ile o Val
- 30

5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (76)..(76)
 <223> Xaa puede ser Leu o Ala

10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (108)..(108)
 <223> Xaa puede ser Asp-Arg o puede estar deletado

15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (114)..(114)
 <223> Xaa puede ser Asn o Thr

20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (118)..(118)
 <223> Xaa puede ser Pro o Thr

25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (135)..(135)
 <223> Xaa puede ser Asp o Glu

30
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (142)..(142)
 <223> Xaa puede ser Ser o Thr

35
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (146)..(146)
 <223> Xaa puede ser Phe o Tyr

40
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (153)..(153)
 <223> Xaa puede ser Ala o Thr

45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (178)..(178)
 <223> Xaa puede ser Ala o Tyr

50
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (181)..(181)
 <223> Xaa puede ser Tyr o Asp

55
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (186)..(186)
 <223> Xaa puede ser Ala o Glu

60
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (192)..(192)
 <223> Xaa puede ser Val o Met

65
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (220)..(220)
 <223> Xaa puede ser Ile o Phe

<220>

<221> misc_feature
<222> (225)..(226)
<223> Xaa puede ser Pro-Ser o Pro-Thr

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (233)..(233)
<223> Xaa puede ser Thr o Ser

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (237)..(237)
<223> Xaa puede ser Asp o Ser

15 <220>
<221> misc_feature
<222> (255)..(256)
<223> Xaa puede ser Ser-Ser o puede estar delecionado

20 <400> 2

ES 2 599 171 T3

Xaa Tyr Glu Arg Leu Arg Leu Arg Val Thr His Gln Thr Thr Gly Xaa
 1 5 10 15

Glu Tyr Phe Arg Phe Ile Thr Leu Leu Arg Asp Tyr Val Ser Ser Gly
 20 25 30

Ser Phe Ser Asn Glu Ile Pro Leu Leu Arg Gln Ser Thr Ile Pro Val
 35 40 45

Ser Asp Ala Gln Arg Phe Val Leu Val Glu Leu Thr Asn Gln Gly Xaa
 50 55 60

Asp Ser Xaa Thr Ala Ala Ile Asp Val Thr Asn Xaa Tyr Val Val Ala
 65 70 75 80

Tyr Gln Ala Gly Asp Gln Ser Tyr Phe Leu Arg Asp Ala Pro Arg Gly
 85 90 95

Ala Glu Thr His Leu Phe Thr Gly Thr Thr Arg Xaa Ser Ser Leu Pro
 100 105 110

Phe Xaa Gly Ser Tyr Xaa Asp Leu Glu Arg Tyr Ala Gly His Arg Asp
 115 120 125

Gln Ile Pro Leu Gly Ile Xaa Gln Leu Ile Gln Ser Val Xaa Ala Leu
 130 135 140

Arg Xaa Pro Gly Gly Ser Thr Arg Xaa Gln Ala Arg Ser Ile Leu Ile
 145 150 155 160

Leu Ile Gln Met Ile Ser Glu Ala Ala Arg Phe Asn Pro Ile Leu Trp
 165 170 175

Arg Xaa Arg Gln Xaa Ile Asn Ser Gly Xaa Ser Phe Leu Pro Asp Xaa
 180 185 190

Tyr Met Leu Glu Leu Glu Thr Ser Trp Gly Gln Gln Ser Thr Gln Val
 195 200 205

Gln His Ser Thr Asp Gly Val Phe Asn Asn Pro Xaa Arg Leu Ala Ile
 210 215 220

Xaa Xaa Gly Asn Phe Val Thr Leu Xaa Asn Val Arg Xaa Val Ile Ala
 225 230 235 240

Ser Leu Ala Ile Met Leu Phe Val Cys Gly Glu Arg Pro Ser Xaa Xaa
 245 250 255

ES 2 599 171 T3

<210> 3
 <211> 257
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> Proteina recombinante de EP1051495
 <220>
 10 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado
 15 <400> 3

```

Xaa Tyr Glu Arg Leu Arg Leu Arg Val Thr His Gln Thr Thr Gly Asp
1          5          10          15

Glu Tyr Phe Arg Phe Ile Thr Leu Leu Arg Asp Tyr Val Ser Ser Gly
          20          25          30

Ser Phe Ser Asn Glu Ile Pro Leu Leu Arg Gln Ser Thr Ile Pro Val
          35          40          45

Ser Asp Ala Gln Arg Phe Val Leu Val Glu Leu Thr Asn Gln Gly Gln
          50          55          60

Asp Ser Ile Thr Ala Ala Ile Asp Val Thr Asn Ala Tyr Val Val Ala
65          70          75          80

Tyr Gln Ala Gly Asp Gln Ser Tyr Phe Leu Arg Asp Ala Pro Arg Gly
          85          90          95

Ala Glu Thr His Leu Phe Thr Gly Thr Thr Arg Asp Arg Ser Ser Leu
          100          105          110

Pro Phe Thr Gly Ser Tyr Thr Asp Leu Glu Arg Tyr Ala Gly His Arg
          115          120          125
  
```

ES 2 599 171 T3

Asp Gln Ile Pro Leu Gly Ile Glu Gln Leu Ile Gln Ser Val Ser Ala
 130 135 140
Leu Arg Tyr Pro Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gln Ala Arg Ser Ile Leu
 145 150 155 160
Ile Leu Ile Gln Met Ile Ser Glu Ala Ala Arg Phe Asn Pro Ile Leu
 165 170 175
Trp Arg Tyr Arg Gln Asp Ile Asn Ser Gly Glu Ser Phe Leu Pro Asp
 180 185 190
Met Tyr Met Leu Glu Leu Glu Thr Ser Trp Gly Gln Gln Ser Thr Gln
 195 200 205
Val Gln His Ser Thr Asp Gly Val Phe Asn Asn Pro Phe Arg Leu Ala
 210 215 220
Ile Ser Thr Gly Asn Phe Val Thr Leu Ser Asn Val Arg Ser Val Ile
 225 230 235 240
Ala Ser Leu Ala Ile Met Leu Phe Val Cys Gly Glu Arg Pro Ser Ser
 245 250 255

Ser

5 <210> 4
 <211> 264
 <212> PRT
 <213> Artificial

 10 <220>
 <223> Proteina recombinante de EP0751221

 15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

 <400> 4

ES 2 599 171 T3

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
1 5 10 15

Gly Arg Asn Gly Met Cys Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe Arg Asp
20 25 30

Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
35 40 45

Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser

ES 2 599 171 T3

50		55		60											
Cys 65	Leu	Thr	Thr	Tyr	Gly 70	Tyr	Thr	Ala	Gly	Val 75	Tyr	Val	Met	Ile	Phe 80
Asp	Cys	Asn	Thr	Ala 85	Val	Arg	Glu	Ala	Thr 90	Leu	Trp	Gln	Ile	Trp 95	Gly
Asn	Gly	Thr	Ile 100	Ile	Asn	Pro	Arg	Ser 105	Asn	Leu	Val	Leu	Ala 110	Ala	Ser
Ser	Gly	Ile 115	Lys	Gly	Thr	Thr	Leu 120	Thr	Val	Gln	Thr	Leu	Asp 125	Tyr	Thr
Leu	Gly 130	Gln	Gly	Trp	Leu	Ala 135	Gly	Asn	Asp	Thr	Ala 140	Pro	Arg	Glu	Val
Thr 145	Ile	Tyr	Gly	Phe	Arg 150	Asp	Leu	Cys	Met	Glu 155	Ser	Asn	Gly	Gly	Ser 160
Val	Trp	Val	Glu 165	Thr	Cys	Val	Ser	Ser	Gln 170	Lys	Asn	Gln	Arg	Trp 175	Ala
Leu	Tyr	Gly	Asp 180	Gly	Ser	Ile	Arg	Pro 185	Lys	Gln	Asn	Gln	Asp 190	Gln	Cys
Leu	Thr	Cys 195	Gly	Arg	Asp	Ser	Val 200	Ser	Thr	Val	Ile	Asn 205	Ile	Val	Ser
Cys 210	Ser	Ala	Gly	Ser	Ser	Gly 215	Gln	Arg	Trp	Val	Phe 220	Thr	Asn	Glu	Gly
Ala 225	Ile	Leu	Asn	Leu	Lys 230	Asn	Gly	Leu	Ala	Met 235	Asp	Val	Ala	Gln	Ala 240
Asn	Pro	Lys	Leu	Arg 245	Arg	Ile	Ile	Ile	Tyr 250	Pro	Ala	Thr	Gly	Lys 255	Pro
Asn	Gln	Met	Trp 260	Leu	Pro	Val	Pro								

<210> 5
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Proteina recombinante de EP0751221

10

ES 2 599 171 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

5

<400> 5

```

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
1          5          10          15

Gly Arg Asn Gly Met Cys Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe Arg Asp
20          25          30

Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
35          40          45

Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser
50          55          60

Cys Leu Thr Thr Tyr Gly Tyr Thr Ala Gly Val Tyr Val Met Ile Phe
65          70          75          80

Asp Cys Asn Thr Ala Val Arg Glu Ala Thr Leu Trp Gln Ile Trp Gly
85          90          95

Asn Gly Thr Ile Ile Asn Pro Arg Ser Asn Leu Val Leu Ala Ala Ser
100         105         110

Ser Gly Ile Lys Gly Thr Thr Leu Thr Val Gln Thr Leu Asp Tyr Thr
115         120         125

Leu Gly Gln Gly Trp Leu Ala Gly Asn Asp Thr Ala Pro Arg Glu Val
130         135         140

Thr Ile Tyr Gly Phe Arg Asp Leu Cys Met Glu Ser Asn Gly Gly Ser
145         150         155         160

Val Trp Val Glu Thr Cys Val Ser Ser Gln Lys Asn Gln Arg Trp Ala
165         170         175

Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln Cys
180         185         190

Leu Thr Cys Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val Ser
195         200         205

Cys Ser Ala Gly Ser Ser Gly Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu Gly
210         215         220

Ala Ile Leu Asn Leu Lys Asn Gly Leu Ala Met Asp Val Ala Gln Ala
225         230         235         240
    
```

ES 2 599 171 T3

Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys Pro
 245 250 255

Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Pro Gly Gly Tyr His
 260 265

5 <210> 6
 <211> 265
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Proteina recombinante de EP1051495

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa puede ser Asn o Ser

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa puede ser Cys o Arg

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa puede ser Gly o Asn

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (96)..(96)
 <223> Xaa puede ser Gly o Asn

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (158)..(158)
 <223> Xaa puede ser Gly o Gln

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (167)..(167)
 <223> Xaa puede ser Val o Asp

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (171)..(171)
 <223> Xaa puede ser Gln o Lys

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (174)..(175)
 <223> Xaa puede ser Gly o puede estar delecionado o puede ser Gly-Arg o Gly-Lys o Arg o Lys

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (196)..(196)
 <223> Xaa puede ser Cys o Val o Ser

ES 2 599 171 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (212)..(213)
 <223> Xaa puede ser Ala-Ala o Ala-Gly o Gly-Ala o Gly-Gly
 5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (215)..(216)
 <223> Xaa puede ser Ser-Ser o Ser-Gly o Gly-Ser o Gly-Gly
 10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (225)..(225)
 <223> Xaa puede ser Gly o Tyr
 15
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (232)..(236)
 <223> Xaa232 puede ser Asn, Ser, Thr o Lys, Xaa233 puede ser Ser o Gly, Xaa234 puede ser Leu o Pro,
 20 Xaa235 puede ser Ala o Met, Xaa 236 puede ser Met o Val
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (265)..(265)
 <223> Xaa puede ser Pro o Phe
 25
 <400> 6

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

ES 2 599 171 T3

Thr Ile Tyr Gly Phe Arg Asp Leu Cys Met Glu Ser Asn Xaa Gly Ser
145 150 155 160

Val Trp Val Glu Thr Cys Xaa Ser Ser Gln Xaa Asn Gln Xaa Xaa Trp
165 170 175

Ala Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln
180 185 190

Cys Leu Thr Xaa Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val
195 200 205

Ser Cys Ser Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu
210 215 220

Xaa Ala Ile Leu Asn Leu Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Val Ala Gln
225 230 235 240

Ala Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys
245 250 255

Pro Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Xaa
260 265

<210> 7
<211> 264
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Proteína recombinante de EP1051495

10

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

15

<400> 7

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
1 5 10 15

Gly Arg Asn Gly Met Cys Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe His Asp
20 25 30

Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
35 40 45

Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser
50 55 60

ES 2 599 171 T3

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
1 5 10 15

Gly Arg Asn Gly Met Arg Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe His Asp
20 25 30

Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
35 40 45

Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser
50 55 60

Cys Leu Thr Thr Tyr Gly Tyr Thr Ala Gly Val Tyr Val Met Ile Phe
65 70 75 80

Asp Cys Asn Thr Ala Val Arg Glu Ala Thr Ile Trp Gln Ile Trp Asp
85 90 95

Asn Gly Thr Ile Ile Asn Pro Arg Ser Asn Leu Val Leu Ala Ala Ser
100 105 110

Ser Gly Ile Lys Gly Thr Thr Leu Thr Val Gln Thr Leu Asp Tyr Thr
115 120 125

Leu Gly Gln Gly Trp Leu Ala Gly Asn Asp Thr Ala Pro Arg Glu Val
130 135 140

Thr Ile Tyr Gly Phe Arg Asp Leu Cys Met Glu Ser Asn Gly Gly Ser
145 150 155 160

Val Trp Val Glu Thr Cys Asp Ser Ser Gln Lys Asn Gln Gly Lys Trp
165 170 175

Ala Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln
180 185 190

Cys Leu Thr Ser Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val
195 200 205

Ser Cys Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu
210 215 220

Gly Ala Ile Leu Asn Leu Lys Asn Gly Leu Ala Met Asp Val Ala Gln
225 230 235 240

Ala Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys

245

250

255

Pro Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Phe
260 265

5 <210> 9
<211> 265
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Proteina recombinante de EP1051495

15 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser Met o puede estar deleccionado

<400> 9

ES 2 599 171 T3

Ala Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln
 180 185 190

Cys Leu Thr Val Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val
 195 200 205

Ser Cys Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu
 210 215 220

Tyr Ala Ile Leu Asn Leu Lys Ser Gly Leu Ala Met Asp Val Ala Gln
 225 230 235 240

Ala Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys
 245 250 255

Pro Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Phe
 260 265

<210> 10
 <211> 265
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Proteina recombinante de EP1051495

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

<400> 10

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
 1 5 10 15

Gly Arg Asn Gly Met Arg Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe His Asp
 20 25 30

Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
 35 40 45

Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser
 50 55 60

Cys Leu Thr Thr Tyr Gly Tyr Thr Ala Gly Val Tyr Val Met Ile Phe
 65 70 75 80

Asp Cys Asn Thr Ala Val Arg Glu Ala Thr Ile Trp Gln Ile Trp Asp
 85 90 95

ES 2 599 171 T3

Asn Gly Thr Ile Ile Asn Pro Arg Ser Asn Leu Val Leu Ala Ala Ser
 100 105 110

Ser Gly Ile Lys Gly Thr Thr Leu Thr Val Gln Thr Leu Asp Tyr Thr
 115 120 125

Leu Gly Gln Gly Trp Leu Ala Gly Asn Asp Thr Ala Pro Arg Glu Val
 130 135 140

Thr Ile Tyr Gly Phe Arg Asp Leu Cys Met Glu Ser Asn Gly Gly Ser
 145 150 155 160

Val Trp Val Glu Thr Cys Asp Ser Ser Gln Lys Asn Gln Gly Lys Trp
 165 170 175

Ala Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln
 180 185 190

Cys Leu Thr Ser Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val
 195 200 205

Ser Cys Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu
 210 215 220

Gly Ala Ile Leu Asn Leu Lys Thr Gly Leu Ala Met Asp Val Ala Gln
 225 230 235 240

Ala Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys
 245 250 255

Pro Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Phe
 260 265

5 <210> 11
 <211> 265
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Proteína recombinante de EP1051495

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser Met o puede estar deletado

15 <400> 11

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
 1 5 10 15

ES 2 599 171 T3

Gly Arg Asn Gly Met Arg Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe His Asp
 20 25 30

Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
 35 40 45

Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser
 50 55 60

Cys Leu Thr Thr Tyr Gly Tyr Thr Ala Gly Val Tyr Val Met Ile Phe
 65 70 75 80

Asp Cys Asn Thr Ala Val Arg Glu Ala Thr Ile Trp Gln Ile Trp Asp
 85 90 95

Asn Gly Thr Ile Ile Asn Pro Arg Ser Asn Leu Val Leu Ala Ala Ser
 100 105 110

Ser Gly Ile Lys Gly Thr Thr Leu Thr Val Gln Thr Leu Asp Tyr Thr
 115 120 125

Leu Gly Gln Gly Trp Leu Ala Gly Asn Asp Thr Ala Pro Arg Glu Val
 130 135 140

Thr Ile Tyr Gly Phe Arg Asp Leu Cys Met Glu Ser Asn Gly Gly Ser
 145 150 155 160

Val Trp Val Glu Thr Cys Asp Ser Ser Gln Lys Asn Gln Gly Lys Trp
 165 170 175

Ala Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln
 180 185 190

Cys Leu Thr Ser Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val
 195 200 205

Ser Cys Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu
 210 215 220

Gly Ala Ile Leu Asn Leu Lys Lys Gly Pro Ala Met Asp Val Ala Gln
 225 230 235 240

Ala Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys
 245 250 255

Pro Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Phe
 260 265

5 <210> 12
<211> 265
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Proteina recombinante de EP1051495

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser Met o puede estar delecionado

15 <400> 12

ES 2 599 171 T3

Xaa Asp Asp Val Thr Cys Ser Ala Ser Glu Pro Thr Val Arg Ile Val
 1 5 10 15
 Gly Arg Asn Gly Met Arg Val Asp Val Arg Asp Asp Asp Phe His Asp
 20 25 30
 Gly Asn Gln Ile Gln Leu Trp Pro Ser Lys Ser Asn Asn Asp Pro Asn
 35 40 45
 Gln Leu Trp Thr Ile Lys Arg Asp Gly Thr Ile Arg Ser Asn Gly Ser
 50 55 60
 Cys Leu Thr Thr Tyr Gly Tyr Thr Ala Gly Val Tyr Val Met Ile Phe
 65 70 75 80
 Asp Cys Asn Thr Ala Val Arg Glu Ala Thr Ile Trp Gln Ile Trp Asp
 85 90 95
 Asn Gly Thr Ile Ile Asn Pro Arg Ser Asn Leu Val Leu Ala Ala Ser
 100 105 110
 Ser Gly Ile Lys Gly Thr Thr Leu Thr Val Gln Thr Leu Asp Tyr Thr
 115 120 125
 Leu Gly Gln Gly Trp Leu Ala Gly Asn Asp Thr Ala Pro Arg Glu Val
 130 135 140
 Thr Ile Tyr Gly Phe Arg Asp Leu Cys Met Glu Ser Asn Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Val Trp Val Glu Thr Cys Asp Ser Ser Gln Lys Asn Gln Gly Lys Trp
 165 170 175
 Ala Leu Tyr Gly Asp Gly Ser Ile Arg Pro Lys Gln Asn Gln Asp Gln
 180 185 190
 Cys Leu Thr Ser Gly Arg Asp Ser Val Ser Thr Val Ile Asn Ile Val
 195 200 205

ES 2 599 171 T3

Ser Cys Ser Gly Ala Ser Gly Ser Gln Arg Trp Val Phe Thr Asn Glu
210 215 220

Gly Ala Ile Leu Asn Leu Lys Asn Ser Leu Met Val Asp Val Ala Gln
225 230 235 240

Ala Asn Pro Lys Leu Arg Arg Ile Ile Ile Tyr Pro Ala Thr Gly Lys
245 250 255

Pro Asn Gln Met Trp Leu Pro Val Phe
260 265

REIVINDICACIONES

- 5 1. Agente antiviral o fármaco que contiene lectina de muérdago recombinante para el uso en el tratamiento de infecciones virales o para prevenir infecciones virales, estando seleccionada la lectina de muérdago recombinante del grupo de secuencias de aminoácidos SEQ ID NO. 1 - 12 o comprendiendo partes y fragmentos funcionales de la misma o una combinación de las mismas.
- 10 2. Agente antiviral o fármaco para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, siendo el polipéptido de lectina de muérdago recombinante una cadena A de lectina de muérdago seleccionada del grupo de las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO. 1 - 3 o comprendiendo partes y fragmentos funcionales de la misma o una combinación de las mismas.
- 15 3. Agente antiviral o fármaco para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, siendo el polipéptido de lectina de muérdago recombinante una cadena B de lectina de muérdago seleccionada del grupo de las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO. 4 - 12 o comprendiendo partes y fragmentos funcionales de la misma o una combinación de las mismas.
- 20 4. Agente antiviral o fármaco para el uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3 para el uso en una de las siguientes infecciones virales: infección por virus *Herpes simplex*, infección por adenovirus, infección por virus de la polio, infección por poxvirus, infección por parvovirus, infección por papovavirus, infección por hepadnavirus, infección por ortomiovirus, infección por virus de papiloma, infección por paramixovirus, infección por coronavirus, infección por picornavirus, infección por reovirus, infección por togavirus, infección por flavivirus, infección por arenavirus, infección por rabdovirus, infección por retrovirus.
- 25 5. Agente antiviral o fármaco para el uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4 para el uso en verrugas víricas cutáneas, verrugas anogenitales, verrugas de la mucosa y tumores malignos tales como carcinoma de cuello de útero, carcinoma de pene y de vulva.
- 30 6. Agente antiviral o fármaco para el uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5 que contiene un vehículo farmacéuticamente compatible o, dado el caso, otros coadyuvantes y aditivos.
7. Agente antiviral o fármaco para el uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6 que contiene una composición farmacéutica, estando presente la composición en forma de una solución, gel o crema.