

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 973**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2014** E 14182795 (6)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018** EP 2990415

54 Título: **Análogos de las defensinas beta cíclicas para el tratamiento de infecciones**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.04.2019

73 Titular/es:
CEINGE BIOTECNOLOGIE AVANZATE S.C. A R.L.
(100.0%)
Via Comunale Margherita, 482
80131 Napoli, IT

72 Inventor/es:
COLAVITA, IRENE;
GALDIERO, STEFANIA;
NIGRO, ERSILIA;
PESSI, ANTONELLO;
SALVATORE, FRANCESCO y
SCUDIERO, OLGA

74 Agente/Representante:
SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 710 973 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 las defensinas beta cíclicas para el tratamiento de infecciones.

La presente invención se refiere a los análogos de las defensinas β cíclicas, a su uso en el tratamiento de infecciones y composiciones farmacéuticas que los contienen.

- 5 Es bien sabido que existe una creciente resistencia a los antibióticos de los patógenos y que se necesitan nuevas estrategias para resolver este problema. Además, para algunos microorganismos, tal como las *Pseudomonas*, no hay disponibles agentes eficaces para el tratamiento.

Se considera que los péptidos antimicrobianos (AMP) proporcionan potencialmente estas nuevas herramientas terapéuticas necesarias en la lucha contra las enfermedades infecciosas.

- 10 Los AMP son moléculas de defensa presentes y producidas por todos los organismos, desde bacterias hasta vertebrados. Estos péptidos ejercen múltiples actividades eficaces contra todos los microorganismos, incluyendo bacterias, hongos, virus y parásitos. En los humanos y otros mamíferos, los AMP son un componente clave de la defensa de la superficie epitelial, constituyendo un impedimento entre el entorno externo y el interno, interactuando con diversos microorganismos.

- 15 Las defensinas son AMP que muestran una naturaleza anfipática característica derivada de cargas positivas y residuos de aminoácidos hidrófobos que se organizan para asumir una estructura anfipática tridimensional. Las defensinas se han clasificado en tres subfamilias: defensinas alfa, beta y teta. Seis residuos de cisteína responsables de tres enlaces disulfuro intramoleculares combinados en diferentes patrones son características reconocidas de estos péptidos. El plegamiento de las defensinas se estabiliza principalmente por la presencia de
20 estos tres enlaces disulfuro que determinan la distribución de residuos cargados positivamente e hidrófobos que se correlaciona con su actividad.

Las defensinas pueden romper la estructura de la membrana de los microorganismos; además, pueden inhibir la síntesis del ADN y afectar la rotación del metabolismo. Varios autores demostraron una actividad antimicrobiana de amplio espectro frente a varios microorganismos, como bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos y virus.

- 25 Por estas razones, las defensinas son candidatas de alta calidad, capaces de combatir enfermedades infecciosas.

- Las defensinas tienen también una serie de desventajas que restringen gravemente su uso clínico. Por ejemplo, pueden ejercer actividad hemolítica (6), su actividad se puede inhibir en presencia de una alta concentración de sal (7) y se escinden rápidamente en fluidos humanos mediante proteasas. El correcto plegamiento de los enlaces disulfuro también representa un factor limitante para el uso terapéutico potencial de las defensinas. De hecho, la
30 obtención de una sola molécula con el patrón correcto de enlaces disulfuro es extremadamente complicada y costosa.

- En un intento por superar estas desventajas, las β -defensinas quiméricas combinan la β -defensina 3 humana (hBD3) con la β -defensina 1 humana (hBD1) (el documento WO2009/083249; Scudiero O. et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2010; 54: 2312-2322; Scudiero O. et al. Antimicrob. Ag. Chemother. 2013; 57: 1701-1708;) o β -
35 defensina 2 humana (hBD2) (Jung S. et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2011; 55: 954-960; Spudy B. et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2012; 427: 207-211) se sintetizaron e investigaron por sus actividades antibacterianas, antivirales y quimiotácticas, así como por su resistencia a la sal. Los análogos sintéticos han mostrado un aumento de las propiedades antibacterianas y una sensibilidad reducida a la sal.

- A pesar de la optimización de los protocolos sintéticos (Liu S.. Pept. Sci. 2009; 15: 95-106), la preparación de hBD3 y análogos es muy desafiante y no se presta fácilmente a la producción comercial a gran escala. Además, todavía no se ha demostrado la farmacocinética y la biodistribución apropiadas para ningún candidato terapéutico de β -
40 Defensina.

- Ahora hemos identificado análogos de las defensinas β -cíclicas con un perfil más favorable en términos de facilidad de síntesis, costo de los productos, estabilidad in vitro e in vivo, que mantienen tanto como sea posible el perfil biológico de hBD3 de longitud completa.
45

Los análogos de las defensinas β cíclicas de la presente invención mantienen la cola C-terminal de hBD3 y comprenden segmentos que forman parte de las secuencias de aminoácidos del anillo cerrado por el disulfuro nativo Cys³-Cys⁶ en las β -defensinas hBD1- hBD3.

- El objeto de la presente invención es un péptido cíclico seleccionado del grupo que consiste en la SEQ. ID. No. 1, SEQ. ID. No. 2, SEQ. ID. No. 25.
50

SEQ. ID. No. 1 corresponde a la fórmula (I):

de la vacuna (véase Wilson, S. S., M. E. Wiens, et al. (2013). "Antiviral mechanisms of human defensins." J. Mol. Biol. 425(24): 4965-4980).

5 Otro objeto de la presente invención son las composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de β defensinas de fórmula (I) como se definió anteriormente y al menos un excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable. Dicha composición también puede comprender diluyentes, cargas, sales, soluciones reguladoras, estabilizantes, solubilizantes y otros materiales bien conocidos en la técnica.

La composición farmacéutica puede estar en cualquier forma apropiada, dependiendo del método de administración previsto. Puede ser, por ejemplo, en forma de comprimido, cápsula o líquido para administración oral, o de una solución o suspensión para administración por vía parenteral.

10 La velocidad de dosificación a la que se administra el compuesto, el derivado o la composición dependerá de la naturaleza del sujeto, la naturaleza y la gravedad de la afección, el método de administración usado, etc. El médico capacitado puede seleccionar los valores apropiados. .

15 Los compuestos de la invención se pueden administrar por cualquier vía apropiada, incluyendo por vía oral, intravenosa, cutánea, subcutánea, etc. Estos compuestos se pueden preparar por síntesis química a partir de aminoácidos u oligopéptidos individuales, preferiblemente protegidos, y usando conocidos métodos de síntesis de péptidos tal como la química estándar convencional de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc) a temperatura ambiente como se describe en Atherton, E. and R. C. Sheppard (1989). La síntesis de péptidos en fase sólida, un enfoque práctico. Oxford, IRL Press.

Ejemplos

20 Ejemplo 1: Síntesis de péptidos

Reactivos

25 Todos los aminoácidos Fmoc, diisopropiletilamina (DIPEA), piperidina, anhídrido acético, ácido trifluoroacético (TFA), triisopropilsilano (TIS), etanoditiol (EDT) diclorometano (DCM), N, N-dimetilformamida (DMF), tert-butil metil éter, N, N'-dicioxilcarbodiimida (DCC), ácido 3-bromopropiónico, agua de calidad para HPLC y acetonitrilo se obtuvieron de Sigma Aldrich (St. Louis, MO). El hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y el hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il) -N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU) se obtuvieron de AnaSpec, Inc. (Fremont, CA). La resina Rink-amida-MBHA se obtuvo de Novabiochem (San Diego, CA).

Síntesis

30 Los péptidos se sintetizaron según la química convencional estándar de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc) a temperatura ambiente usando el instrumento Biotage Syro Wave o el sintetizador automático Syro I MultiSynThec GmbH (Wullener, Alemania) en diferentes resinas según el C-terminal para obtener (resina Rink Amide MBHA con 0.38 mmol/g de sustitución o resina Wang con 1.0 mmol/g), en una escala de 50 μ mol. La desprotección de Fmoc con 30% de piperidina en DMF se realizó en dos etapas con una desprotección inicial de 5 min seguida de 10 min a 25 °C.

35 Las soluciones de aminoácidos, HOBT/HBTU y DIEA se prepararon a la concentración de 0.5 M, 0.45 M y 1 M en DMF, respectivamente.

40 Las reacciones de acoplamiento se realizaron con un exceso de 5 veces de Fmoc-AA-OH con AA/HOBT-HBTU/DIPEA 1:1:2 durante 30 min a 25 °C. Se realizó un doble acoplamiento a RT (cada uno de 30 min) para el Fmoc-Arg (Pbf)-OH impedido. La terminación del péptido, al final de cada síntesis, se realizó con una solución al 10% de anhídrido acético y 6% de DIPEA en DMF (doble acetilación, cada una de 20 minutos). El anhídrido simétrico del ácido 3-bromopropiónico se preparó usando una carga de 10 eq./resina de ácido 3-bromopropiónico y una carga de 5 eq./resina de DCC en DCM. Para el acoplamiento, se añadió anhídrido 3-bromopropiónico a la resina en presencia de una cantidad catalítica de DIPEA en DMF, durante 1 hora a 25 °C.

45 La escisión se realizó usando TFA/H₂O/TIS/EDT 94.5:2.5:1:2.5 durante 3 horas a 25 °C. Después de la escisión, el péptido se precipitó y se lavó en tert-butil metil éter.

La formación de enlaces disulfuro o tioéter se realizó disolviendo 1 mg/ml del péptido en bruto en una solución 0.1 M de bicarbonato de amonio, dejando la mezcla bajo agitación en un recipiente abierto durante 24 horas. Las reacciones fueron controladas por LC/MS.

50 Análisis LC/MS de péptidos. La purificación de péptidos y el análisis de LC/MS se realizaron usando un sistema combinado HPLC (Gilson)/Espectrómetro de masas Flexar SQ 300 con ionización por electroaspersión (Perkin Elmer) o un ESI LC-MS (Thermo Electron Finnigan Surveyor MSQ single quadrupole). La cromatografía líquida analítica en fase inversa a alta presión (RP-HPLC) se realizó con una columna Jupiter Proteo 10 μ m C18 250x4.6 mm, controlando a 220 y 280 nm con un flujo de 1.3 mL/min usando un sistema de solvente H₂O/0.1% de TFA (A) y

5 CH₃CN/0.1% de TFA (B) con un gradiente lineal 5 - 60% B durante 30 min. La purificación del péptido se realizó mediante cromatografía líquida semipreparativa en fase inversa a alta presión (RP-HPLC). La cromatografía semipreparativa utilizó una columna Jupiter Proteo 90 Å C18 (10x250 mm, 10 µm) (Phenomenex) y un gradiente lineal del 5 al 60% de B durante 25 minutos, velocidad de flujo 10 mL/min. La identidad de los péptidos purificados se confirmó mediante cromatografía líquida de ionización por pulverización electrónica - espectrometría de masas (ESI LC-MS). La exploración MS se realizó en el intervalo de masa de 200 a 3000 m/z.

Ejemplo 2: Actividad antibacteriana

Ensayo de actividad antibacteriana

10 Un ensayo de CFU de la actividad antibacteriana de los péptidos de la presente invención contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE. UU.) 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Escherichia coli* ATCC 25922 se realizó de la siguiente manera. Las cepas se cultivaron en condiciones aeróbicas en caldo de soja tríptico (Difco Laboratories, Detroit, MI, EE. UU.) a 37 °C y se incubaron en presencia de hBD durante 2 horas a 37 °C. Se usan dos concentraciones de péptidos, esto es, 2.5 µM y 12.5 µM. Para el ensayo de dependencia de la sal, se incluyeron NaCl 0, 50, 100 y 200 mM en la solución reguladora de incubación como se describió anteriormente (1). Cada ensayo se realizó por triplicado. La actividad bactericida (media y SD de tres ensayos) se expresa como la proporción entre las colonias contadas y el número de colonias en una placa de control. La concentración inhibitoria mínima (MIC) del péptido de la SEQ ID No. 25 se determinó con una versión modificada del ensayo de dilución de microcaldo de the National Committee for Clinical Laboratory Standards usando un inóculo final de 10⁵ UFC/ml. Se usaron las siguientes concentraciones de péptidos: 100.0, 50.0, 25.0, 12.5, 6.25, 3.12 and 1.56 µM.

El rendimiento de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Escherichia coli* ATCC 25922 también se probaron.

Resultados

25 La actividad antibacteriana de la SEQ ID No. 25 se evaluó en comparación con hBD1 y hBD3 como péptidos de referencia. Se analizaron dos concentraciones de cada péptido (2.5 y 12.5 µM) y cuatro concentraciones de NaCl (0, 50, 100 y 200 mM) contra *P. aeruginosa*, *E. coli* y *E. faecalis*, y los resultados se presentan en la tabla 1. La SEQ ID No. 25, ensayada contra *P. aeruginosa* a 2.5 µM, ejerció una actividad antibacteriana similar en comparación con hBD3 a NaCl 200 mM; a 12.5 µM, la SEQ ID No. 25 fue más activa a NaCl 200 mM.

30 La actividad antibacteriana de la SEQ ID No. 25 frente a *E. coli* y *E. faecalis* fue similar a la hBD3 hasta la sal 100 mM tanto en el péptido 2.5 como en el 12.5 µM. La SEQ ID No. 25 ejerció la mejor actividad antibacteriana a 12.5 µM: fue más eficaz que hBD3 en presencia de las concentraciones más altas de sal (200 mM) (Fig. 2B, C). Su MIC osciló entre 12.5-25.0 µM para los microorganismos probados. hBD1, hBD3 y SEQ ID No.25 ejercieron un fuerte efecto antibacteriano contra *P. aeruginosa*, *E. coli* y *E. faecalis* (12.5 µM).

35 Los resultados reportados muestran que la SEQ ID No. 25 tiene una actividad antibacteriana mejorada en comparación con las hBD de tipo salvaje.

TABLA 1

% CFU muertas a dos concentraciones de péptidos contra <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> y <i>E. faecalis</i> con NaCl 0, 50, 100 y 200 mM										
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	
0 mM	98%	99%	99%	100%	100%	100%	99%	100%	100%	2.5µM
	99%	100%	100%	99%	99%	99%	100%	100%	98%	12.5µM
50 mM	20%	38%	20%	100%	100%	99%	100%	100%	100%	2.5µM
	36%	40%	30%	100%	99%	99%	99%	98%	99%	12.5µM
100 mM	8%	18%	6%	83%	82%	83%	10%	63%	62%	2.5µM
	20%	23%	20%	100%	98%	100%	96%	95%	97%	12.5µM
200 mM	4%	10%	3%	20%	8%	20%	5%	2%	2%	2.5µM
	10%	18%	10%	30%	42%	50%	40%	99%	98%	12.5µM
	hBD1	hBD1	hBD1	hBD3	hBD3	hBD3	AMC	AMC	AMC	

Se aplicó el mismo método para probar la actividad antibacteriana de SEQ ID No.1 y SEQ ID No.2, en forma oxidada y reducida, usando hBD3 como péptido de referencia. Se analizaron dos concentraciones de cada péptido (2.5 y 12.5 µM) y cuatro concentraciones de NaCl (0, 50, 100 y 200 mM) contra *P. aeruginosa*, y *E. coli*. Los resultados se informan en la figura 1 (Actividad antibacteriana de la SEQ. N. 1 y 2 en *E. coli*) y en la figura 2 (Actividad antibacteriana de la SEQ. N. 1 y 2 en *P. aeruginosa*).

Ejemplo 3: actividad antiviral

Ensayo de actividad antiviral

Las células Vero se cultivaron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con suero de ternera fetal al 10%. HSV-1 que porta un gen lacZ dirigido por el promotor IE-1 del citomegalovirus (CMV) para expresar beta-galactosidasa se propagó como se describe en otro lugar (Galdiero S, Falanga A, Vitiello M, D'Isanto M, Cantisani M, Kampanaraki A, Benedetti E, Browne H, Galdiero M. Peptides. 2008 Sep;29(9):1461-71). Todos los experimentos se realizaron en paralelo con controles sin péptidos. Se evaluó el efecto de los péptidos sobre la inhibición de la infectividad por HSV en monocapas celulares (Tarallo R, Carberry TP, Falanga A, Vitiello M, Galdiero S, Galdiero M, Week M., Int J Nanomedicine. 2013;8:521-34.) de la siguiente manera: i) Para los experimentos de "coexposición", las células se incubaron con concentraciones crecientes de los péptidos (1, 5, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0 y 150.0 µM) y con el inóculo viral durante 45 minutos a 37 °C. Los virus no penetrados se inactivaron con solución reguladora de citrato a pH 3.0. Las monocapas se fijaron, se tiñeron con 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-galactopiranosido (X-gal) y se anotaron los números de placa. Los experimentos se realizaron por triplicado y el porcentaje de inhibición se calculó con respecto a los experimentos de control sin péptidos; ii) Para los experimentos de "preexposición de virus", aproximadamente 2 x 10⁴ PFU de HSV-1 se incubaron con 20 µM de péptidos durante 45 minutos a 37 °C, luego se titularon en monocapas de células Vero; iii) Para los experimentos de "preexposición celular", las células Vero se incubaron con 20 µM de péptidos durante 30 minutos a 4 °C y se infectaron con diluciones en serie de HSV-1, durante 45 minutos a 37 °C; y iv) Para los experimentos de "postexposición", las monocapas de células Vero se incubaron con virus, durante 45 minutos a 37 °C y posteriormente se añadió el péptido al inóculo seguido de un período de incubación adicional de 30 minutos a 37 °C.

Resultados

La actividad antiviral de SEQ ID No.25 en forma oxidada y reducida, se evaluó y comparó con la actividad de hBD3, y los resultados se informan en la tabla 2.

La actividad antiviral se evaluó en experimentos de coexposición (con células, virus y péptidos a tiempo cero), experimentos de preexposición de virus (virus más péptido antes de la infección celular), experimentos de

5 preexposición de células (célula más péptido antes de la infección por virus) y postratamiento (célula más virus antes de la adición de péptidos) para evaluar en qué fase, si corresponde, los péptidos podrían inhibir la infectividad del virus. La SEQ ID No.25 en su forma reducida siempre fue menos activa que la versión oxidada, mientras que se informa que hBD3 oxidada y reducida mostró la misma actividad antiviral. Tanto en la coexposición como en los experimentos de pretratamiento de virus, la SEQ. ID. No 25 oxidada fue capaz de reducir la infectividad del virus del 60% a 150 μ M, mientras que se obtuvo una reducción de la infectividad del 30% en el experimento de pretratamiento celular, y no se observó ningún efecto en el experimento de postratamiento. Estos resultados indican que el nuevo péptido es capaz de interferir con la unión y entrada viral. La SEQ.ID. No. 25 oxidada mostró una IC50 de 100 μ M, en comparación con una IC50 de 10 μ M para hBD3.

10

TABLA 2

Inhibición de péptidos a diferentes concentraciones y tratamientos								
	1 μ M	5 μ M	10 μ M	20 μ M	50 μ M	100 μ M	150 μ M	
hBD3	79	60	43	32	17.5	9	6.5	Cotratamiento a 37°C
	64	52	33	31	20	10	8.5	Pretratamiento del virus a 37°C
	53.5	41	27	22	18	5	1	Pretratamiento celular a 4°C
SEQ.ID. No 25 ox	81	76	74	62	60	43	40	Cotratamiento a 37°C
	100	72	58	45	44	42	41	Pretratamiento del virus a 37°C
	100	76	74	71	69	67	65	Pretratamiento celular a 4°C
SEQ.ID. No 25 red	99	98	95	79	77	67	60	Cotratamiento a 37°C
	99	98	95	91	80	77	70	Pretratamiento del virus a 37°C
	99	98	95	91	89	87	85	Pretratamiento celular a 4°C

Se aplicó el mismo método para probar la actividad antiviral de la SEQ ID No.1 a diferentes concentraciones (1, 5, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0 y 150.0 μ M). Los resultados se presentan en la tabla 3.

TABLA 3

Infectividad viral residual (% de control) en las concentraciones y condiciones indicadas

	1 μ M	5 μ M	10 μ M	20 μ M	50 μ M	100 μ M	150 μ M	
SEQ ID N. 1	79		72	66	58	54	32	Cotratamiento a 37°C
	57	54	52	49	44	37	22	Pretratamiento del virus a 37°C
	85	83	81	69	58	48	32	Pretratamiento celular a 4°C

15 Ejemplo 4: Estabilidad sérica de SEQ ID No.1

20

5 La estabilidad sérica de SEQ ID No. 1 se evaluó como se informó en Antcheva N, Morgera F, Creatti L, Vaccari L, Pag U, Pacor S, Shai Y, Sahl HG, Tossi A. 2009. La beta-defensina artificial basada en una plantilla de defensina mínima. *Biochem. J.* 421:435-447. Se incubaron alícuotas de SEQ ID No. 1 con suero humano al 20% (v/v) a 0, 0.5, 1, 2, 3, 6, 8, y 24 h, y luego se analizaron por LC/MS para determinar la integridad del péptido. La LC/MS se realizó en un sistema combinado constituido por una cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (Gilson, Middleton, EE. UU.) En interfaz con un espectrómetro de masas Flexar SQ 300 con ionización por electroaspersión (Perkin Elmer, CA, USA). Los componentes se separaron usando una columna analítica Jupiter C₁₈ de fase inversa (tamaño de partícula de 5 μm, tamaño de poro de 300 Å, 4.6 x 250 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Alemania) con un gradiente lineal de 5 a 60% de acetonitrilo en agua acidificada (0.1 % de ácido trifluoroacético [TFA]), durante 10 30 min. La escisión de péptidos en suero se evaluó mediante un análisis de espectrometría de masas de ionización por pulverización de electrones (ESI-MS). La exploración MS se realizó en el intervalo de masa de 200 a 3000 m/z.

15 Los resultados se presentan en la tabla 4. La SEQ ID No. 1 es completamente estable hasta 3 h de incubación, y el péptido intacto sigue presente después de 24 h. La hidrólisis del péptido procede del término C, con escisión progresiva hasta el primer residuo de cisteína. La secuencia delimitada por el puente disulfuro permanece estable a partir de entonces, y representa el único producto de degradación identificado junto con el péptido intacto al final del período de incubación.

Tabla 4

Curso temporal de la incubación de la SEQ ID No. 1 en plasma humano				
Tiempo (h)	Secuencia de péptidos	Masa teórica	Masa exp. (m/z)	Estado de carga
0	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1357.79	+2
			906.05	+3
			680.10	+4
0.5	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1358.30	+2
			906.07	+3
			679.70	+4
1	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1358.58	+2
			906.02	+3
			679.81	+4
3	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1358.36	+2
			906.13	+3
			679.81	+4
6	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1358.58	+2
			906.02	+3
			679.71	+4
	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRK-OH	2587.05	1294.95	+2
			863.21	+3
			647.31	+4
	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCR-OH	2303.69	1152.77	+2
			768.92	+3
			576.84	+4
			1074.60	+2

ES 2 710 973 T3

	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSC-OH	2147.5	716.84	+3
			537.75	+4
8	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1357.91	+2
			905.74	+3
			679.70	+4
	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRK-OH	2587.05	1294.70	+2
			862.90	+3
			647.44	+4
	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCR-OH	2303.69	1152.55	+2
			768.70	+3
			576.70	+4
	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSC-OH	2147.5	1074.13	+2
			716.65	+3
			537.47	+4
24	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSCRRKK-NH ₂	2715.24	1358.17	+2
			905.96	+3
			679.68	+4
	Ac-CLPKEEQIGKSSTRGRKSC-OH	2147.5	1074.32	+2
			716.90	+3
			537.66	+4

Listado de secuencias

<110> CEINGE

<120> Análogos de defensinas beta cíclicas

5 <130> 2951EUR

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 23

10 <212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

15 <223> ACETILACIÓN

<220>

<221> DISULFURO

<222> (1)..(19)

<400> 1

Cys Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

5 <210> 2

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

10 <221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<220>

<221> DISULFURO

15 <222> (1)..(19)

<400> 2

Cys Leu Pro Lys Gln Gln Gln Ile Gly Lys Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 3

<211> 23

20 <212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (1)..(1)

25 <223> -CH2-CH2-CH2-CO-

<220>

<221> TIOÉTER

<222> (1)..(19)

<400> 3

ES 2 710 973 T3

Xaa Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 4

<211> 23

<212> PRT

5 <213> Secuencia sintética

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (1)..(1)

<223> -CH2-CH2-CH2-CO-

10 <220>

<221> TIOÉTER

<222> (1)..(19)

<400> 4

Xaa Leu Pro Lys Gln Gln Gln Ile Gly Lys Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

15 <210> 5

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

20 <221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<220>

<221> DISULFURO

25 <222> (1)..(19)

<400> 5

Cys Pro Arg Arg Tyr Lys Gln Ile Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

ES 2 710 973 T3

<210> 6

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

5 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (1)..(1)

<223> -CH2-CH2-CH2-CO-

<220>

10 <221> TIOÉTER

<222> (1)..(19)

<400> 6

Xaa Pro Arg Arg Tyr Lys Gln Ile Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 7

15 <211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> MOD_RES

20 <222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<220>

<221> DISULFURO

<222> (1)..(19)

25 <400> 7

Cys Pro Ile Phe Thr Lys Ile Gln Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 8

<211> 23

<212> PRT

30 <213> Secuencia sintética

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (1)..(1)

<223> -CH2-CH2-CH2-CO-

5 <220>

<221> DISULFURO

<222> (1)..(19)

<400> 8

Xaa Pro Ile Phe Thr Lys Ile Gln Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

10 <210> 9

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

15 <221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<220>

<221> DISULFURO

20 <222> (1)..(1)

<400> 9

Cys Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Gly Leu Pro Gly Thr
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 10

<211> 23

25 <212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (1)..(1)

30 <223> -CH2-CH2-CH2-CO-

<220>

<221> TIOÉTER

<222> (1)..(19)

<400> 10

Xaa Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Gly Leu Pro Gly Thr
 1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
 20

5

<210> 11

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

10

<220>

<221> DISULFURO

<222> (1)..(19)

<220>

<221> MOD_RES

15

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<400> 11

Cys Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
 1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
 20

<210> 12

20

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

25

<222> (1)..(1)

<223> -CH2-CH2-CH2-CO-

<220>

<221> TIOÉTER

<222> (1)..(19)

30

<400> 12

ES 2 710 973 T3

Xaa Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

- <210> 13
- <211> 23
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia sintética
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (1)..(1)
- <223> ACETILACIÓN
- 10 <220>
- <221> DISULFURO
- <222> (1)..(19)
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- 15 <222> (20)..(20)
- <223> D-Arg
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- <222> (21)..(21)
- 20 <223> D-Arg
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- <222> (22)..(22)
- <223> D-Lys
- 25 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- <222> (23)..(23)
- <223> D-Lys
- <400> 13

Cys Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

30

<210> 14
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia sintética
 5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 <220>
 10 <221> DISULFURO
 <222> (1)..(19)
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (20)..(20)
 15 <223> D-Arg
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (21)..(21)
 <223> D-Arg
 20 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (22)..(22)
 <223> D-Lys
 <220>
 25 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (23)..(23)
 <223> D-Lys
 <400> 14

Cys	Leu	Pro	Lys	Gln	Gln	Gln	Ile	Gly	Lys	Ser	Ser	Thr	Arg	Gly	Arg
1			5					10						15	

Lys	Ser	Cys	Arg	Arg	Lys	Lys
			20			

 30 <210> 15
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia sintética

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (20)..(20)

<223> D-Arg

<220>

5 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (21)..(21)

<223> D-Arg

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

10 <222> (22)..(22)

<223> D-Lys

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (23)..(23)

15 <223> D-Lys

<400> 17

Cys Pro Arg Arg Tyr Lys Gln Ile Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 18

<211> 23

20 <212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (1)..(1)

25 <223> -CH2-CH2-CH2-CO-

<220>

<221> TIOÉTER

<222> (1)..(19)

<400> 18

Xaa Pro Arg Arg Tyr Lys Gln Ile Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

30

<210> 19
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia sintética
 5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 <220>
 10 <221> DISULFURO
 <222> (1)..(19)
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (20)..(20)
 15 <223> D-Arg
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (21)..(21)
 <223> D-Arg
 20 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (22)..(22)
 <223> D-Lys
 <220>
 25 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (23)..(23)
 <223> D-Lys
 <400> 19

Cys Pro Ile Phe Thr Lys Ile Gln Gly Thr Ser Ser Thr Arg Gly Arg
 1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
 20

30 <210> 20
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia sintética

- <220>
 <221> DISULFURO
 <222> (1)..(19)
 <220>
 5 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (20)..(20)
 <223> D-Arg
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 10 <222> (21)..(21)
 <223> D-Arg
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (22)..(22)
 15 <223> D-Lys
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (23)..(23)
 <223> D-Lys
 20 <400> 21

Cys Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Gly Leu Pro Gly Thr
 1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
 20

- <210> 22
 <211> 23
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia sintética
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (1)..(1)
 <223> -CH2-CH2-CH2-CO-
 30 <220>
 <221> TIOÉTER
 <222> (1)..(19)
 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (20)..(20)
 <223> D-Arg
 <220>

5 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (21)..(21)
 <223> D-Arg
 <220>

10 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (22)..(22)
 <223> D-Lys
 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (23)..(23)
 15 <223> D-Lys
 <400> 22

Xaa	Leu	Pro	Lys	Glu	Glu	Gln	Ile	Gly	Lys	Ser	Gly	Leu	Pro	Gly	Thr
1				5					10					15	
			Lys	Ser	Cys	Arg	Arg	Lys	Lys						
			20												

<210> 23
 <211> 23

20 <212> PRT
 <213> Secuencia sintética
 <220>

<221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)

25 <223> ACETILACIÓN
 <220>

<221> DISULFURO
 <222> (1)..(19)
 <220>

30 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
 <222> (20)..(20)
 <223> D-Arg
 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

- <222> (21)..(21)
- <223> D-Arg
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- 5 <222> (22)..(22)
- <223> D-Lys
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- <222> (23)..(23)
- 10 <223> D-Lys
- <400> 23

```

Cys Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
1           5           10           15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
                20
    
```

- <210> 24
- <211> 23
- 15 <212> PRT
- <213> Secuencia sintética
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- <222> (1)..(1)
- 20 <223> -CH2-CH2-CH2-CO-
- <220>
- <221> TIOÉTER
- <222> (1)..(19)
- <220>
- 25 <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- <222> (20)..(20)
- <223> D-Arg
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC
- 30 <222> (21)..(21)
- <223> D-Arg
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS_MISC

<222> (22)..(22)

<223> D-Lys

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS_MISC

5 <222> (23)..(23)

<223> D-Lys

<400> 24

Xaa Leu Pro Lys Glu Glu Gln Ile Gly Lys Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
1 5 10 15

Lys Ser Cys Arg Arg Lys Lys
20

<210> 25

10 <211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia sintética

<220>

<221> DISULFURO

15 <222> (1)..(11)

<400> 25

Cys Pro Ile Phe Thr Lys Ile Gln Gly Thr Cys Gly Gly Arg Arg Lys
1 5 10 15

Lys

REIVINDICACIONES

1. Un péptido cíclico seleccionado del grupo que consiste en la SEQ. ID. No. 1, SEQ. ID. No. 2, SEQ. ID. No. 25.
2. Un péptido cíclico según la reivindicación 1 en forma lipitada o PEGilada.
- 5 3. Un péptido cíclico según la reivindicación 1 o 2 para uso como medicamento.
4. Un péptido cíclico según la reivindicación 1 o 2 para uso en el tratamiento de infecciones bacterianas o virales.
5. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido cíclico según la reivindicación 1 y al menos un excipiente y/o portador farmacéuticamente aceptable.

FIGURA 1

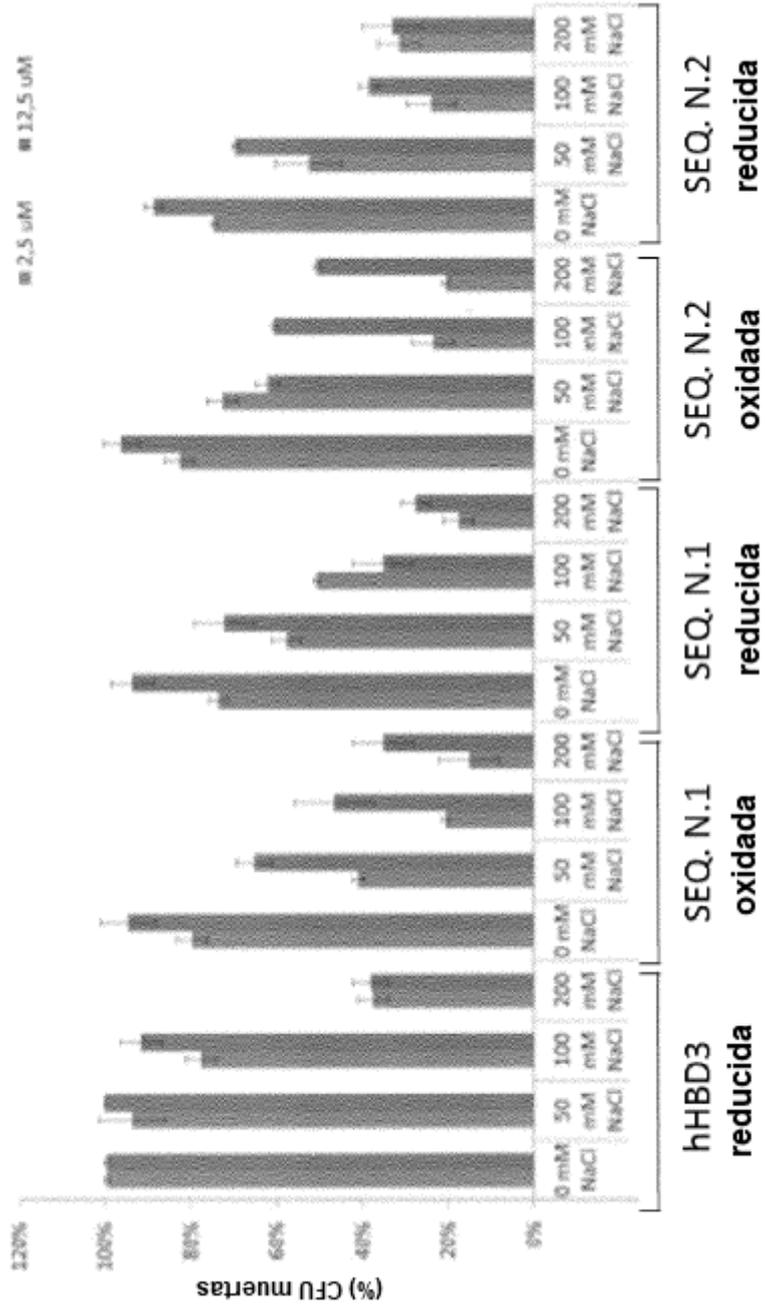


FIGURA 2

