

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 720 527**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.06.2015 PCT/GB2015/051801**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015 WO15193688**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2015 E 15732895 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 3158053**

54 Título: **Aceleración del crecimiento de micobacterias**

30 Prioridad:

20.06.2014 GB 201411075

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

22.07.2019

73 Titular/es:

**ST. GEORGE'S HOSPITAL MEDICAL SCHOOL
(100.0%)**

**Cranmer Terrace Tooting
London, Greater London SW17 0RE, GB**

72 Inventor/es:

**BULL, TIMOTHY JOHN y
HILPERT, KAI**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 720 527 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

Aceleración del crecimiento de micobacterias

5 Campo de la invención

La invención se refiere a un método para potenciar el crecimiento de las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento. La invención también se refiere a un método para diagnosticar una sospecha de infección por especie micobacteriana de crecimiento lento y para controlar el progreso de dicha infección. También se proporciona un método de selección sistemática de nuevos péptidos.

Antecedentes de la invención

La Organización Mundial de la Salud estima que más de un tercio de la población mundial está infectada de forma latente con micobacterias. Todos los años, más de 60 millones de personas se someten a pruebas de detección de infecciones por micobacterias. Las investigaciones iniciales y el seguimiento de las infecciones latentes y resistentes a múltiples fármacos cuestan 1.500 millones de libras en todo el mundo, costando el tratamiento de los casos de infecciones por micobacterias resistentes a múltiples fármacos en el RU hasta 7.000 libras por paciente.

El cultivo de un patógeno a partir de una muestra de paciente apropiada sigue siendo el criterio de referencia para el diagnóstico. A pesar de mas 100 años de desarrollo en la metodología de cultivos de micobacterias, la producción de crecimiento es frustrantemente lenta (hasta seis semanas), inexacta y, particularmente en muestras con un bajo número de patógenos, puede ser imposible. Esto se debe a que, como patógenos humanos intracelulares adaptados, las micobacterias pueden dejar de dividirse y quedarse latentes al entrar en el hospedador. No se garantiza el inicio del recrecimiento micobacteriano a partir de muestras de pacientes para obtener un diagnóstico. Esas proporciones de bacterias que comienzan a crecer suelen requerir muchas semanas, a veces meses, para generar un crecimiento observable. Este tiempo de detección lento es perjudicial para las estrategias nacionales de salud eficaces relacionadas con la enfermedad micobacteriana; ha conducido a métodos de cultivo que solo tienen un valor retrospectivo. Hasta ahora, no se han identificado métodos reproducibles sencillos ni preparaciones estables capaces de lograr una estimulación del crecimiento fiable.

El documento WO 2013/053772 desvela los péptidos WKWLKKWIK, WRKFWKYLK y RRWRVIVKW, y el uso de dichos péptidos como agentes terapéuticos para la profilaxis y/o el tratamiento de infecciones, en particular, infecciones bacterianas y/o fúngicas, y enfermedades causadas por infecciones bacterianas y/o fúngicas. El documento WO 2006/050611 desvela una nueva clase de péptidos que tiene actividad antimicrobiana. También se desvelan métodos para inhibir el crecimiento de bacterias utilizando los péptidos y las composiciones farmacéuticas. El documento RU 2 233 876 C2 desvela la potenciación de la velocidad de crecimiento y la capacidad de siembra de micobacterias. El documento RU 2 215 039 C2 también desvela el aumento de la velocidad de crecimiento de micobacterias.

Sumario de la invención

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que ciertos péptidos que son capaces de actuar como agentes antimicrobianos también son capaces de potenciar el crecimiento de células de una especie micobacteriana de crecimiento lento.

La invención proporciona un método para potenciar el crecimiento de las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento, que comprende cultivar las células en un medio de crecimiento que comprende un péptido antimicrobiano catiónico, péptido que:

- (a) tiene una longitud de 6 a 20 aminoácidos;
- (b) incluye del 30 al 55 % de restos cargados positivamente;
- (c) comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos;
- (d) comprende al menos un resto de valina, al menos un resto de isoleucina y/o al menos un resto de arginina; y
- (e) reduce la fase de retraso para el crecimiento de la especie micobacteriana en comparación con un control que carece del péptido antimicrobiano.

La invención también proporciona:

- un método para diagnosticar una sospecha de infección por especie micobacteriana de crecimiento lento en un sujeto, comprendiendo dicho método:

- (a) cultivar células de la especie micobacteriana de crecimiento lento de una muestra obtenida del sujeto sospechoso de tener dicha infección cultivando las células en un medio de crecimiento que comprende uno o más péptidos antimicrobianos catiónicos como se ha definido anteriormente; y
- (b) identificar la especie, subespecie y/o resistencia a los antibióticos micobacterianas tras el crecimiento de

las células, y diagnosticar así la infección;

- un método para controlar el progreso de una infección por especie micobacteriana de crecimiento lento en un sujeto, comprendiendo dicho método:

(a) cultivar células de una muestra obtenida del sujeto que se sabe que tiene dicha infección en un medio de crecimiento que comprende uno o más péptidos antimicrobianos catiónicos como se ha definido anteriormente; (b) analizar el crecimiento de las células o las características de las células después del crecimiento; y (c) repetir las etapas (a) y (b);

- uso de un péptido antimicrobiano catiónico como se ha definido anteriormente para potenciar el crecimiento de las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento; y
- un método de selección sistemática de un péptido que potencie el crecimiento de las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento, comprendiendo dicho método cultivar células de la especie micobacteriana de crecimiento lento en un medio de crecimiento que comprende el péptido y controlar el crecimiento de las células, en el que el péptido es:

(a) de una longitud de 6 a 20 aminoácidos; (b) incluye del 30 al 55 % de aminoácidos cargados; (c) comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos; y (d) comprende al menos un resto de valina, al menos un resto de isoleucina y/o al menos un resto de arginina;

y proporcionar un resultado que identifique al péptido como potenciador del crecimiento de las células, en el que el péptido reduce la fase de retraso, y opcionalmente, aumenta la velocidad de división de las células en comparación con el crecimiento de las células en un medio de cultivo en ausencia de cualquier péptido.

Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la variación en los efectos inducidos durante un período de 20 días en cultivos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP) por diversos complementos de TiKa (péptidos antimicrobianos) añadidos a 20 µg/ml (final). FX1 = reducción en la fase de retraso, FX2 = aumento en la velocidad de división.

La Figura 2 muestra las curvas de crecimiento de tres especies micobacterianas (MAP, *M.tuberculosis* y *M.vaccae*) en presencia de TiKa 14D (20 µg/ml).

La Figura 3 muestra los efectos de TiKa 14D en cultivos con diferentes densidades ópticas iniciales.

La Figura 4 muestra el tiempo hasta la positividad esperado para una muestra de ensayo con TiKa 14D y para una muestra de control con medio convencional.

La Figura 5 muestra curvas de crecimiento a diversas concentraciones de péptido. La parte (A) presenta los resultados para el péptido TiKa 14D y la parte (B) presenta los resultados para el péptido TiKa 102.

La Figura 6 muestra un medio sólido POZ-A con y sin 20 µg/ml de TiKa 14D inoculados en paralelo con inóculos idénticos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* y con incubación durante 2 semanas a 37 °C.

Descripción del listado de secuencias

Las SEQ ID NO: 1-117 muestran las secuencias de péptidos analizadas para determinar su capacidad para potenciar el crecimiento de micobacterias (presentadas en el apéndice).

Descripción detallada de la invención

Se debe entender que las diferentes aplicaciones de los productos y métodos desvelados se pueden adaptar a necesidades específicas en la técnica. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento únicamente tiene el fin de describir realizaciones particulares de la invención, y no se pretende que sea limitante.

Además, como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el" o "la" incluyen referentes plurales salvo que el contenido indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a una "secuencia de aminoácidos" incluye dos o más de dichas secuencias, y similares.

Método para potenciar el crecimiento de las células micobacterianas

La presente invención se refiere a un método para potenciar (acelerar) el crecimiento de las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento. El crecimiento bacteriano en el cultivo normalmente puede modelarse en cuatro fases. Estas son: la fase de retraso, en la que las bacterias se adaptan a las condiciones de crecimiento antes de dividirse; la fase exponencial, que se caracteriza por una duplicación (división) rápida; la fase estacionaria; y la fase de muerte. En el método de la presente invención, la potenciación del crecimiento de las células de las especies micobacterianas resulta de una reducción en la fase de retraso. Preferentemente, la fase de retraso es reduce, y la velocidad de división de las bacterias aumenta. En particular, se reduce la fase de retraso y, opcionalmente, la

velocidad de división de las bacterias aumenta en comparación con un control idéntico que carece del péptido antimicrobiano.

En algunos casos, la fase de retraso puede reducirse en al menos un 25% o preferentemente en al menos un 50 % en comparación con un control idéntico que carece del péptido antimicrobiano. Además, en algunos casos, la velocidad de división de las bacterias aumenta al menos 1,5 veces, preferentemente, al menos 2 veces en comparación con un control idéntico que carece del péptido antimicrobiano.

Como se analiza más adelante, se ha demostrado que los péptidos antimicrobianos destruyen las bacterias Gram negativas, bacterias Gram positivas, virus envueltos, hongos e incluso células cancerosas transformadas. En la presente invención, los péptidos antimicrobianos tienen un efecto directo en el crecimiento acelerado de una especie micobacteriana de crecimiento lento. En otras palabras, los péptidos antimicrobianos potencian el crecimiento de la especie micobacteriana de crecimiento lento cuando la especie micobacteriana se cultiva en ausencia de otros microorganismos. Los péptidos antimicrobianos pueden reducir directamente la fase de retraso y opcionalmente aumentar la velocidad de división de las bacterias.

No obstante, el péptido antimicrobiano también puede tener un efecto indirecto sobre la potenciación del crecimiento de la especie micobacteriana. Por ejemplo, en un cultivo mixto de bacterias, el péptido antimicrobiano puede matar bacterias contaminantes, virus, etc. además de potenciar directamente el crecimiento de la especie micobacteriana de crecimiento lento en cuestión.

La fase de retraso y la velocidad de división pueden determinarse usando métodos de rutina en la técnica. Por lo general, el crecimiento y la expansión de las células de un cultivo bacteriano se determina controlando la densidad óptica (DO) del cultivo (por ejemplo, la DO₆₀₀ o la DO₈₀₀ como se ilustra en la sección de ejemplos a continuación). La fase de retraso y la velocidad de división se pueden determinar a partir de gráficas de la DO a lo largo del tiempo.

En el método de la invención, se potencia el crecimiento de células de una especie micobacteriana de crecimiento lento. Las micobacterias de crecimiento lento se pueden definir como especies de micobacterias que tardan más de 7 días en formar colonias claramente visibles a simple vista en el subcultivo (por ejemplo, en uno o más de los medios enumerados a continuación a 37 °C). El método de la invención se puede usar para acelerar el crecimiento de cualquier especie micobacteriana de crecimiento lento. Son ejemplos de dichas especies *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium leprae* y *Mycobacterium kanasasii*. Preferentemente, en el método de la invención, la especie micobacteriana de crecimiento lento es *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium leprae*.

Mycobacterium avium puede ser cualquier subespecie, en particular, *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, *Mycobacterium avium* subespecie *silvaticum*, *Mycobacterium avium* subespecie *hominissuis* o *Mycobacterium avium* subespecie *avium*.

El método comprende cultivar las células de las especies micobacterianas de crecimiento lento en un medio de crecimiento. El medio de crecimiento puede ser cualquier medio de crecimiento sólido o líquido capaz de soportar el crecimiento de una determinada especie. Dichos medios son conocidos en la técnica. El medio líquido puede ser, por ejemplo, medio BacTAlert MP (Biomérieux, Francia); medio MGIT960 (Becton Dickinson, EE.UU.); medio modificado de Middlebrook 7H9 (referencia: Pozzato *et al. J. Microbiol. Methods.* marzo de 2011;84(3):413-7); o medio modificado de Middlebrook 7H9 más piruvato sódico al 0,5 % (Sigma, RU). Un ejemplo de un medio sólido adecuado es el medio POZ-A: medio modificado de Middlebrook 7H9 (como anteriormente) con agarosa de electroforesis al 1,6 % añadida (Sigma, RU).

Las otras condiciones en las que se cultivan las bacterias pueden ser cualquier condición apropiada para el crecimiento de una determinada especie o subespecie. Dichas condiciones son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, los cultivos de micobacterias normalmente se incuban a 37 °C.

En el método, las células de la especie micobacteriana de crecimiento lento pueden ser de una muestra de un sujeto sospechoso de tener una infección por dicha especie. El sujeto es normalmente un ser humano, pero también puede ser un animal (por ejemplo, un animal doméstico, un animal de ganado o un animal salvaje). Los animales ilustrativos incluyen rumiantes, conejos, bisontes, gatos, perros y tejones.

Las células también pueden ser de una muestra de origen no humano/animal que se sospecha que está infectada. En otras palabras, en algunas circunstancias, el sujeto puede ser no humano o animal. Por ejemplo, la muestra puede ser un alimento o una muestra líquida, una muestra de agua (por ejemplo, de un reservorio) u otra muestra ambiental (por ejemplo, una muestra de suelo).

En el caso de los sujetos humanos o animales, el sujeto puede haber presentado síntomas que indiquen que tiene una infección micobacteriana. Como alternativa, el sujeto puede ser evaluado como parte de un programa de selección sistemática.

Las células también pueden ser de una muestra de un sujeto que se sabe que tiene una infección micobacteriana de crecimiento lento. En este caso, el sujeto ha sido diagnosticado primero con la infección micobacteriana. El diagnóstico puede haberse realizado basándose en técnicas clínicas convencionales. El diagnóstico también puede haber implicado el crecimiento de células de una muestra inicial del sujeto en cultivo en ausencia de un péptido descrito en el presente documento.

La muestra del sujeto puede ser cualquier muestra apropiada, dependiendo de la infección sospechada. Para un sujeto humano o animal, la muestra puede ser esputo, pus, líquido cefalorraquídeo, piel, sangre, orina y/o heces. La muestra también podría ser de la mucosa intestinal y/o tejido de ganglios linfáticos. La muestra es preferentemente una muestra respiratoria.

Cuando el sujeto es un animal (tal como un animal de ganado), la muestra puede ser una muestra de leche. Además, si el sujeto no es humano/animal, la muestra puede ser simplemente un extracto del sujeto.

Los métodos para obtener dichas muestras son bien conocidos en la técnica.

Por lo general, con un sujeto sospechoso de tener una infección, el número de células de la especie micobacteriana de crecimiento lento en la muestra inicial del sujeto es demasiado bajo para permitir la determinación de la especie, subespecie o resistencia a antibióticos bacterianas. En otras palabras, el número de células es demasiado bajo para permitir el diagnóstico de la infección. Por este motivo, el número de células de la muestra inicial del sujeto, en general, se aumenta (a través de la inoculación del medio de cultivo, incubación y posterior crecimiento de las células) para permitir su identificación y diagnóstico. La identificación de la especie, subespecie y/o resistencia a los antibióticos bacterianas se puede determinar después del crecimiento y la expansión de las células mediante métodos habituales en la técnica.

El método de la presente invención, por lo tanto, proporciona medios para el número de células de las micobacterias que se van a amplificar más rápidamente, lo que permite una identificación más rápida de la especie, subespecies y/o resistencia a los antibióticos. El método de la presente invención proporciona así un diagnóstico más rápido de una infección por especie micobacteriana de crecimiento lento.

El método de la presente invención también puede permitir el control del progreso de una infección por especie micobacteriana de crecimiento lento. En este caso, el sujeto es diagnosticado por primera vez de una infección con una especie micobacteriana de crecimiento lento. Como se ha analizado anteriormente, esto se puede lograr usando técnicas clínicas convencionales y normalmente implica obtener una muestra del sujeto, cultivar células de la muestra en un medio de crecimiento e identificar las especies o subespecies después del crecimiento de las células. Las células pueden crecer en un medio en ausencia o en presencia de un péptido descrito en el presente documento.

Tras el diagnóstico, el sujeto se trata usando agentes antimicobacterianos. Los agentes adecuados usados para tratar cada especie micobacteriana son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, isoniazida, rifamicina, Pirazinamida, Etambutol, ácido *para*-aminosalicílico, estreptomina, Kanamicina, Etionamida, Capreomicina, Cicloserina, Fluoroquinolonas, Ciprofloxacina, Esparfloxacina, Ofloxacina, Dapsona, Clofazimina y Macrolidas.

Tras el tratamiento con un agente apropiado (o combinación de agentes), el método de la invención se puede usar entonces para controlar el progreso de la infección. En otras palabras, para controlar si el tratamiento con el agente es eficaz. En este escenario, en los puntos de tiempo apropiados después del tratamiento con el/los agente/s, se obtiene una muestra adicional del sujeto y las células de la muestra cultivadas en un medio de crecimiento que comprende un péptido descrito en el presente documento. Los puntos de tiempo apropiados para obtener una muestra de un sujeto pueden ser fácilmente determinados por un médico. Se pueden obtener muestras, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días tras iniciarse el tratamiento.

El crecimiento de las células, o las características de las células, se analizan para determinar el progreso de la infección. Si no se observa crecimiento de células en el medio de cultivo, es indicativo de que el tratamiento con el/los agente/s ha sido exitoso. Como alternativa, las características de las células, tales como la resistencia a los antibióticos, pueden analizarse para controlar el progreso de la infección.

Por lo general, el proceso de obtención de una muestra de células de un sujeto, cultivando las células en un medio de crecimiento que comprende un péptido descrito en el presente documento y analizando el crecimiento de las células o las características de las células, se repite hasta el tratamiento exitoso de la infección. De nuevo, las muestras se pueden obtener en cualquier intervalo apropiado, tal como cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 14 días.

Aunque el método de la invención se puede usar para los fines de identificación de micobacterias, el diagnóstico de infecciones y el control del progreso de infecciones, También se pueden contemplar otros usos. Por ejemplo, el método puede usarse para proporcionar más rápidamente un mayor número de células micobacterianas de crecimiento lento en el laboratorio para su uso en experimentos posteriores.

Péptidos antimicrobianos

El método de la presente invención comprende cultivar las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento en un medio de crecimiento que comprende un péptido antimicrobiano catiónico. El péptido es (a) de 6 a 20 aminoácidos de longitud, (b) incluye del 30 al 55 % de restos cargados positivamente; y (c) comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos.

Los péptidos antimicrobianos (también denominados péptidos de defensa del hospedador) son parte de la respuesta inmunitaria innata y se encuentran entre todas las clases de vida. Existen diferencias fundamentales entre las células procariotas y eucariotas que pueden representar dianas para los péptidos antimicrobianos. Los péptidos antimicrobianos son un grupo muy diverso de secuencias diferentes, que muestran diferentes modos de acción. Muchos de estos péptidos son antibióticos potentes de amplio espectro que demuestran potencial como nuevos agentes terapéuticos. Se ha demostrado que los péptidos antimicrobianos destruyen bacterias Gram negativas y Gram positivas (incluyendo cepas que son resistentes a los antibióticos convencionales), virus envueltos, hongos e incluso células transformadas o cancerosas. A diferencia de la mayoría de los antibióticos convencionales, parece que los péptidos antimicrobianos también pueden tener la capacidad de potenciar la inmunidad funcionando como inmunomoduladores.

Existen varias bases de datos bioinformáticas para catalogar péptidos antimicrobianos tales como CAMP (Colección de secuencias y estructuras de péptidos antimicrobianos), CAMP versión 2, la base de datos de péptidos antimicrobianos, LAMP y BioPD.

El término "catiónico" refleja el hecho de que el péptido tiene un punto isoeléctrico superior a aproximadamente 9.

Como se analiza más adelante, el péptido tiene una longitud de 6 a 20 aminoácidos, incluye del 30 al 55 % de restos cargados positivamente y comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos. La capacidad de los péptidos para potenciar el crecimiento de una micobacteria de crecimiento lento se puede analizar usando curvas de crecimiento, como se ha descrito anteriormente. En particular, un péptido se puede identificar como capaz de potenciar el crecimiento de una especie micobacteriana de crecimiento lento si disminuye la fase de retraso y aumenta opcionalmente la velocidad de división de las bacterias.

En el método de la invención, el péptido antimicrobiano tiene una longitud de 6 a 20 aminoácidos. Preferentemente, el péptido antimicrobiano tiene una longitud de 8 a 15 aminoácidos. Más preferentemente, el péptido antimicrobiano tiene una longitud de 9 a 13 aminoácidos.

El péptido incluye del 30 al 55 % de restos cargados positivamente. En la siguiente tabla 1, se definen las propiedades de los 20 aminoácidos principales. Como se muestra en la Tabla, la arginina (R), la lisina (K) y la histidina (H) son restos cargados positivamente. Además, la ornitina es un resto cargado que puede estar presente en los péptidos. Los aminoácidos cargados en los péptidos descritos en el presente documento son preferentemente arginina o lisina.

Los péptidos desvelados en el presente documento pueden incluir, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 20 aminoácidos cargados positivamente. El péptido usado en la invención comprende del 30 % al 55 % de restos cargados positivamente, o lo más preferentemente, del 30 % al 50 % de restos cargados positivamente.

Tabla 1 - Propiedades químicas de los aminoácidos

Ala	alifático, hidrófobo, neutro	Met	hidrófobo, neutro
Cys	polar, hidrófobo, neutro	Asn	polar, hidrófilo, neutro
Asp	polar, hidrófilo, cargado (-)	Pro	hidrófobo, neutro
Glu	polar, hidrófilo, cargado (-)	Gln	polar, hidrófilo, neutro
Phe	aromático, hidrófobo, neutro	Arg	polar, hidrófilo, cargado (+)
Gly	alifático, neutro	Ser	polar, hidrófilo, neutro
His	aromático, polar, hidrófilo, cargado (+)	Thr	polar, hidrófilo, neutro
Ile	alifático, hidrófobo, neutro	Val	alifático, hidrófobo, neutro
Lys	polar, hidrófilo, cargado (+)	Trp	aromático, hidrófobo, neutro
Leu	alifático, hidrófobo, neutro	Tyr	aromático, polar, hidrófobo

El péptido también comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos. Como se muestra en la Tabla 1, alanina (A), cisteína (C), fenilalanina (F), isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), prolina (P), valina (V), triptófano (W) y tirosina (Y) son todos hidrófobos. En el péptido, los restos hidrófobos son preferentemente triptófano, isoleucina, valina y/o fenilalanina.

El péptido comprende preferentemente del 45 % al 65 % o del 45 % al 70 % de restos hidrófobos.

El péptido comprende al menos un resto de isoleucina, al menos un resto de valina y/o al menos un resto de arginina. El triptófano también puede estar presente.

5 El péptido puede comprender la secuencia WKIVFWRR (SEQ ID NO: 14). La secuencia puede, por ejemplo, tener al menos un resto añadido en uno o ambos extremos de la SEQ ID NO: 14, siempre que el péptido mantenga su capacidad para potenciar el crecimiento de las micobacterias de crecimiento lento. El péptido puede tener, por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5 restos añadidos en uno o ambos extremos de la secuencia. De igual manera, el péptido puede tener restos eliminados de la SEQ ID NO: 14, siempre que la actividad del péptido no se vea afectada.

10 El péptido también puede consistir en la secuencia de la SEQ ID NO: 14.

El péptido puede comprender o consistir en una variante o SEQ ID NO: 14. La variante conserva la misma proporción (porcentaje) de restos cargados positivamente y restos hidrófobos. Los restos cargados positivamente y los restos hidrófobos pueden ser cualquiera de los descritos anteriormente. La variante conserva preferentemente la misma proporción de restos de arginina, lisina, triptófano, isoleucina, valina y/o fenilalanina.

La variante puede conservar restos hidrófobos en posiciones correspondientes a los restos 1, 3, 4, 5, 6 y 7 de la SEQ. ID NO: 14, y restos cargados positivamente en las posiciones correspondientes a los restos 2, 8 y 9 de la SEQ ID NO: 14. Por ejemplo, en una variante en la que se añaden 2 aminoácidos al comienzo de la SEQ ID NO: 14, la variante contendrá preferentemente restos hidrófobos en las posiciones 3, 5, 6, 7, 8 y 9, y restos cargados positivamente en las posiciones 4, 10 y 11. Cualquiera de los cambios en la secuencia de la variante relativa a la SEQ ID NO: 14 son, por tanto, sustituciones normalmente conservativas.

25 Las sustituciones conservativas reemplazan a los aminoácidos con otros aminoácidos de estructura química similar, propiedades químicas similares o volumen de cada lateral similar. Los aminoácidos introducidos pueden tener polaridad, hidrofiliidad, hidrofobicidad, basicidad, acidez, neutralidad o carga similar a los aminoácidos que reemplazan. Como alternativa, la sustitución conservativa puede introducir otro aminoácido que sea aromático o alifático en el lugar de un aminoácido aromático o alifático preexistente. Los cambios conservativos de aminoácidos son bien conocidos en la técnica y pueden seleccionarse de acuerdo con las propiedades de los 20 aminoácidos principales como se define en la siguiente Tabla 1. Si los aminoácidos tienen polaridad similar, esto también puede determinarse por referencia a la escala de hidropatía para las cadenas laterales de aminoácidos de la Tabla 2.

35 Por lo general, las sustituciones conservativas son los reemplazos, uno por otro, entre los aminoácidos alifáticos Ala, Val, Leu y Phe; el intercambio de los restos hidroxilo Ser y Thr; el intercambio de los restos ácidos Asp y Glu; la sustitución entre los restos de amida Asn y Gln; el intercambio de los restos básicos Lys y Arg; y reemplazo entre los restos aromáticos Phe, Tyr.

Tabla 2- Escala de hidropatía

Cadena lateral	Hidropatía
Ile	4,5
Val	4,2
Leu	3,8
Phe	2,8
Cys	2,5
Met	1,9
Ala	1,8
Gly	-0,4
Thr	-0,7
Ser	-0,8
Trp	-0,9
Tyr	-1,3
Pro	-1,6
His	-3,2
Glu	-3,5
Gln	-3,5
Asp	-3,5
Asn	-3,5
Lys	-3,9
Arg	-4,5

Lo más preferentemente, la variante de la SEQ ID NO: 14 conserva restos de triptófano en posiciones correspondientes a las posiciones 1, 6 y 7 de la SEQ ID NO 14, y restos de arginina en las posiciones correspondientes a las posiciones 8 y 9 de la SEQ ID NO: 14. Cualquiera de las sustituciones relativas a la SEQ ID NO: 14 pueden ser sustituciones conservativas.

5 Como se ha analizado anteriormente, cualquier variante debe seguir conservando la capacidad de potenciar el crecimiento de las micobacterias de crecimiento lento.

10 Como alternativa, el péptido puede comprender la secuencia RRWRIVVIRVRR (SEQ ID NO: 69). Como se ha descrito anteriormente, la secuencia puede tener al menos un resto añadido en uno o ambos extremos de la SEQ ID NO: 69, siempre que el péptido mantenga su capacidad para potenciar el crecimiento de las micobacterias de crecimiento lento. El péptido puede tener, por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5 restos añadidos en uno o ambos extremos de la secuencia. Además, los restos se pueden eliminar de la secuencia siempre que la capacidad del péptido para potenciar el crecimiento no se vea afectada.

15 El péptido también puede consistir en la secuencia de la SEQ ID NO: 69.

20 El péptido puede comprender o consistir en una variante o SEQ ID NO: 69. Las variantes pueden ser como se ha descrito anteriormente para SEQ ID NO: 14. La variante conserva la misma proporción (porcentaje) de restos cargados positivamente y restos hidrófobos. Los restos cargados positivamente y los restos hidrófobos pueden ser cualquiera de los descritos anteriormente. La variante conserva preferentemente la misma proporción de restos de arginina, triptófano, isoleucina y/o valina.

25 La variante puede conservar restos hidrófobos en posiciones correspondientes a los restos 3, 5, 6, 7, 8 y 10 de la SEQ. ID NO: 69, y restos cargados positivamente en las posiciones correspondientes a los restos 1, 2, 4, 9, 11 y 12 de la SEQ ID NO: 69. Cualquier cambio en la secuencia de la variante en relación con la SEQ ID NO: 69 normalmente son sustituciones conservativas como se ha descrito anteriormente.

30 Más preferentemente, la variante conserva restos de arginina y triptófano en posiciones correspondientes a su posición en SEQ ID NO: 69. Por ejemplo, una variante conservará preferentemente un resto de triptófano en una posición correspondiente a la posición 3 de la SEQ ID NO: 69, y restos de arginina en las posiciones correspondientes a las posiciones 1, 2, 4, 9, 11 y 12 de la SEQ. ID NO: 69.

35 Lo más preferentemente, cualquier sustitución de la secuencia son, por tanto, sustituciones conservativas.

Como alternativa adicional, el péptido puede comprender la secuencia RLARIVVIRVAR-BB-K (biotina) (SEQ ID NO: 103). Como se describe a continuación, el marcador -BB-K (biotina) es beta-alanina, beta-alanina, lisina modificada con biotina unida a la cadena lateral.

40 La secuencia puede tener al menos un resto añadido en uno o ambos extremos de la SEQ ID NO: 103, siempre que el péptido mantenga su capacidad para potenciar el crecimiento de las micobacterias de crecimiento lento. El péptido puede tener, por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5 restos añadidos en uno o ambos extremos de la secuencia. Además, se pueden eliminar restos de SEQ ID. NO: 103 siempre que se conserve la actividad del péptido.

45 El péptido también puede consistir en la secuencia de la SEQ ID NO: 103.

50 El péptido también puede comprender o consistir en una variante o SEQ ID NO: 103. Las variantes pueden ser como se ha descrito anteriormente. La variante conserva la misma proporción (porcentaje) de restos cargados positivamente y restos hidrófobos. Los restos cargados positivamente y los restos hidrófobos pueden ser cualquiera de los descritos anteriormente. La variante conserva preferentemente la misma proporción de restos de arginina, lisina, alanina, isoleucina y/o valina.

55 La variante puede conservar restos hidrófobos en posiciones correspondientes a los restos 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10 y 11 de la SEQ. ID NO: 103, y restos cargados positivamente en las posiciones correspondientes a los restos 1, 4, 9 y 12 de la SEQ ID NO: 103. Cualquier cambio en la secuencia de la variante en relación con la SEQ ID NO: 103 normalmente son sustituciones conservativas como se ha descrito anteriormente.

60 Más preferentemente, la variante conserva restos de arginina en posiciones correspondientes a su posición en SEQ ID NO: 114. Por ejemplo, una variante preferentemente conservará restos de arginina en las posiciones correspondientes a los restos 1, 4, 9 y 12 de la SEQ ID NO: 103. Lo más preferentemente, cualquier sustitución es, por tanto, una sustitución conservativa.

El péptido puede incluir cualquiera de los siguientes aminoácidos no naturales:

- 65 **1. Ejemplos de variantes conservativas de triptófano**
2. DL-7-azatriptófano

3. β -(3-benzotienil)-L-alanina
4. β -(3-benzotienil)-D-alanina
5. 5-benciloxi-DL-triptófano
6. 7-benciloxi-DL-triptófano
- 5 7. 5-bromo-DL-triptófano
8. 5-fluoro-DL-triptófano
9. 6-fluoro-DL-triptófano
10. 5-hidroxi-L-triptófano
11. 5-hidroxi-DL-triptófano
- 10 12. 5-metoxi-DL-triptófano
13. α -metil-DL-triptófano
14. 1-metil-DL-triptófano
15. 5-metil-DL-triptófano
16. 6-metil-DL-triptófano
- 15 17. 7-metil-DL-triptófano
18. ácido D-1,2,3,4-tetrahidronorharman-3-carboxílico
19. ácido DL-6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidronorharman-1-carboxílico
20. 5-hidroxitriptófano: Ácido 2-amino 3-[5-hidroxiindolil]-propiónico
21. L-Neo-triptófano
- 20 22. D-Neo-triptófano
- 23. Ejemplos de variantes conservativas de fenilalanina y tirosina**
24. 4-(aminometil)-L-fenilalanina
25. 4-(aminometil)-D-fenilalanina
26. 4-amino-L-fenilalanina
27. 4-amino-D-fenilalanina
28. 3-amino-L-tirosina
29. 4-bromo-L-fenilalanina
30. 4-bromo-D-fenilalanina
31. 4-bis(2-cloroetil)amino-L-fenilalanina
- 30 32. 2-cloro-L-fenilalanina
33. 2-cloro-D-fenilalanina
34. 4-cloro-L-fenilalanina
35. 4-cloro-D-fenilalanina
36. 3-cloro-L-tirosina
- 35 37. 3,4-dicloro-L-fenilalanina
38. 3,4-dicloro-D-fenilalanina
39. 3,4-difluoro-L-fenilalanina
40. 3,4-difluoro-D-fenilalanina
41. 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina
- 40 42. 3,5-diiodo-L-tironina
43. 3,5-diiodo-D-tirosina
44. 3,4-dimetoxi-L-fenilalanina
45. 3,4-dimetoxi-DL-fenilalanina
46. O-etil-L-tirosina
- 45 47. O-etil-D-tirosina
48. 2-fluoro-L-fenilalanina
49. 2-fluoro-D-fenilalanina
50. 4-fluoro-L-fenilalanina
51. 4-fluoro-D-fenilalanina
- 50 52. 3-fluoro-DL-tirosina
53. L-homofenilalanina
54. D-homofenilalanina
55. 2-hidroxi-3-metil-L-fenilalanina
56. 2-hidroxi-3-metil-D-fenilalanina
57. 2-hidroxi-3-metil-DL-fenilalanina
58. 2-hidroxi-4-metil-L-fenilalanina
59. 2-hidroxi-4-metil-D-fenilalanina
60. 2-hidroxi-4-metil-DL-fenilalanina
61. 2-hidroxi-5-metil-L-fenilalanina
- 60 62. 2-hidroxi-5-metil-D-fenilalanina
63. 2-hidroxi-5-metil-DL-fenilalanina
64. β -hidroxi-DL-fenilalanina (DL-treo-3-fenilserina)
65. ácido 7-hidroxi-(S)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico (hidroxi-Tic-OH)
66. ácido 7-hidroxi-(R)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico (hidroxi-D-Tic-OH)
- 65 67. 4-yodo-L-fenilalanina
68. 4-yodo-D-fenilalanina

- 69. 3-yodo-L-tirosina
- 70. α -metil-3-metoxi-DL-fenilalanina
- 71. α -metil-4-metoxi-L-fenilalanina
- 72. α -metil-4-metoxi-DL-fenilalanina
- 5 73. α -metil-L-fenilalanina
- 74. α -metil-D-fenilalanina
- 75. β -metil-DL-fenilalanina
- 76. α -metil-DL-tirosina
- 77. O-metil-L-tirosina
- 10 78. O-metil-D-tirosina
- 79. 4-nitro-L-fenilalanina
- 80. 4-nitro-D-fenilalanina
- 81. 3-nitro-L-tirosina
- 82. ácido (S)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico (L-Tic-OH)
- 15 83. ácido (R)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico (D-Tic-OH)
- 84. L-tironina
- 85. DL-tironina
- 86. L-tiroxina
- 87. D-tiroxina
- 20 88. 2,4,5-trihidroxi-DL-fenilalanina
- 89. 3,5,3'-triyodo-L-tironina
- 90. DL-*m*-tirosina
- 91. DL-*o*-tirosina
- 92. 2-(trifluorometil)-L-fenilalanina
- 25 93. 2-(trifluorometil)-D-fenilalanina
- 94. 2-ciano-L-fenilalanina
- 95. 2-ciano-D-fenilalanina
- 96. 2-metil-L-fenilalanina
- 97. 2-metil-D-fenilalanina
- 30 98. 3-(trifluorometil)-L-fenilalanina
- 99. 3-(trifluorometil)-D-fenilalanina
- 100. 3-ciano-L-fenilalanina
- 101. 3-ciano-D-fenilalanina
- 102. 3-fluoro-L-fenilalanina
- 35 103. fluoro-D-fenilalanina
- 104. 3-metil-L-fenilalanina
- 105. 3-metil-D-fenilalanina
- 106. 4-benzoil-L-fenilalanina
- 107. 4-benzoil-D-fenilalanina
- 40 108. 4-(trifluorometil)-L-fenilalanina
- 109. 4-(trifluorometil)-D-fenilalanina
- 110. 4-ciano-L-fenilalanina
- 111. 4-ciano-D-fenilalanina
- 112. 4-metil-L-fenilalanina
- 45 113. 4-metil-D-fenilalanina
- 114. 2,4-dicloro-L-fenilalanina
- 115. 2,4-dicloro-D-fenilalanina
- 116. 3,5-diiodo-L-tirosina OSu
- 117. Ejemplos de variantes conservativas de arginina y lisina**
- 50 118. ácido L-2-amino-3-guanidinopropiónico
- 119. ácido L-2-amino-3-ureidopropiónico (Albizziin)
- 120. L-citrulina
- 121. DL-citrulina
- 122. ácido 2,6-diaminoheptanodioico (mezcla de isómeros)
- 55 123. *N*- ω , ω -dimetil-L-arginina (simétrica)
- 124. sal clorhidrato de *N*- ϵ , ϵ -dimetil-L-lisina
- 125. α -metil-DL-ornitina
- 126. *N*- ω -nitro-L-arginina
- 127. *N*- ω -nitro-D-arginina
- 60 128. *N*- δ -benciloxycarbonil-L-ornitina
- 129. (*N*- δ -)-L-ornitina
- 130. (*N*- δ -)-D-ornitina
- 131. (*N*- δ -1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etil)-D-ornitina (D-Orn-(Dde)-OH)
- 132. L-ornitina (Orn(-)-OH)
- 65 133. (*N*-d-4-metiltritol)-L-ornitina (Orn(Mtt)-OH)
- 134. (*N*-d-4-metiltritol)-D-ornitina (D-Orn(Mtt)-OH)

135. Ejemplos de variantes conservativas de prolina

136. sal clorhidrato de metiléster de *cis*-4-amino-L-prolina
 137. sal clorhidrato de metiléster de *trans*-4-amino-L-prolina
 138. ácido (S)-azetidin-2-carboxílico
 5 139. *trans*-4-ciano-L-prolina
 140. metiléster de *cis*-4-ciano-L-prolina
 141. metiléster de *trans*-4-ciano-L-prolina
 142. 3,4-deshidro-L-prolina
 143. ácido (R)-5,5-dimetiltiazolidin-4-carboxílico
 10 144. ácido (4S,2RS)-2-etiltiazolidin-4-carboxílico
 145. *trans*-4-fluoro-L-prolina
 146. ácido (2S,3S)-3-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (*trans*-3-hidroxi-L-prolina)
 147. ácido (2S,4S)-(-)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (*cis*-4-hidroxi-L-prolina)
 148. ácido (2S,4R)-(-)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (*trans*-4-hidroxi-L-prolina)
 15 149. ácido (2R,4R)-(+)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxílico (*cis*-4-hidroxi-D-prolina)
 150. ácido (2S,4R)-(-)-4-t-butoxipirrolidin-2-carboxílico (*trans*-4-t-butoxi-L-prolina)
 151. ácido (2S,5RS)-5-metilpirrolidin-2-carboxílico
 152. ácido (4S,2RS)-2-metiltiazolidin-4-carboxílico
 153. ácido (2S,3R)-3-fenilpirrolidin-2-carboxílico
 20 154. ácido (4S,2RS)-2-feniltiazolidin-4-carboxílico
 155. ácido (S)-tiazolidin-2-carboxílico
 156. ácido (R)-tiazolidin-2-carboxílico
 157. ácido (S)-tiazolidin-4-carboxílico
 158. ácido (R)-tiazolidin-4-carboxílico (L-tioprolina)
 25 159. α-alil-DL-prolina
 160. α-bencil-DL-prolina
 161. α-(2-bromobencil)-DL-prolina
 162. α-(4-bromobencil)-DL-prolina
 163. α-(2-clorobencil)-DL-prolina
 30 164. α-(3-clorobencil)-DL-prolina
 165. α-(difenilmetil)-DL-prolina
 166. α-(4-fluorobencil)-DL-prolina
 167. α-metil-DL-prolina
 168. α-(4-metilbencil)-DL-prolina
 35 169. α-(1-naftilmetil)-DL-prolina
 170. α-propil-DL-prolina
 171. 4-bencil-L-pirolglutámico
 172. benciléster de ácido 4-(2-bromobencil)-L-pirolglutámico
 173. benciléster de ácido 4-(4-bromobencil)-L-pirolglutámico
 40 174. benciléster de ácido 4-(4-metilbencil)-L-pirolglutámico

175. Varios aminoácidos heterocíclicos

176. ácido α-amino-3-cloro-4,5-dihidro-5-isoxazolacético
 177. ácido 2-amino-α-(metoxiimino)-4-tiazolacético (predominantemente syn)
 178. 5-ácido aminoarótico
 45 179. ácido 2-aminopiridil-3-carboxílico (ácido 2-aminonicotínico)
 180. ácido 6-aminopiridil-3-carboxílico (ácido 6-aminonicotínico)
 181. ácido 2-aminotiazol-4-acético
 182. ácido (S)-azetidin-2-carboxílico
 183. ácido azetidin-3-carboxílico
 50 184. 4-carboximetilpiperazina
 185. 4-carboximetilpiperazina
 186. 2-carboxipiperazina
 187. 3-carboxipiperidina
 188. ácido indolin-2-carboxílico
 55 189. L-mimosina
 190. ácido 4-fenilpiperidin-4-carboxílico
 191. ácido (S)-(-)-piperidin-2-carboxílico (ácido L-(-)-pipecólico)
 192. ácido (R)-(+)-piperidin-2-carboxílico (ácido D-(+)-pipecólico)
 193. ácido (RS)-piperidin-2-carboxílico (ácido DL-pipecólico)
 60 194. ácido piperidin-4-carboxílico (ácido isonipecótico)
195. Ejemplos de variantes conservativas de alanina, glicina, valina y leucina
 196. 3-(2-furil)-D-Ala-OH
 197. 3-ciclopentil-DL-Ala-OH
 198. 3-(4-quinolil)-DL-Ala-OH
 65 199. dihidrato de diclorhidrato de 3-(4-quinolil)-DL-Ala-OH
 200. 3-(2-quinolil)-DL-Ala-OH

	201. 3-(2-quinoxalil)-DL-Ala-OH
	202. α -alil-L-alanina
	203. L-alilglicina
	204. sal de dicitlohexilamonio de L-alilglicina
5	205. D-alilglicina
	206. sal de dicitlohexilamonio de D-alilglicina
	207. ácido L- α -aminobutírico (Abu-OH)
	208. ácido D- α -aminobutírico (D-Abu-OH)
	209. ácido DL- α -aminobutírico (DL- β -Abu-OH)
10	210. ácido γ -aminobutírico (γ -Abu-OH)
	211. ácido α -aminoisobutírico (Aib-OH)
	212. ácido DL- β -aminoisobutírico (DL- β -Aib-OH)
	213. Di-N- α -aminometil-L-alanina
	214. ácido 2-amino-4,4,4-trifluorobutírico
15	215. ácido 3-amino-4,4,4-trifluorobutírico
	216. β -(3-benzotienil)-L-alanina
	217. β -(3-benzotienil)-D-alanina
	218. <i>t</i> -butil-L-alanina
	219. <i>t</i> -butil-D-alanina
20	220. L- <i>t</i> -butilglicina
	221. D- <i>t</i> -butilglicina
	222. β -ciano-L-alanina
	223. β -ciclohexil-L-alanina (Cha-OH)
	224. β -ciclohexil-D-alanina (D-Cha-OH)
25	225. L-ciclohexilglicina (Chg-OH)
	226. D-ciclohexilglicina (D-Chg-OH)
	227. β -ciclopentil-DL-alanina
	228. β -ciclopenten-1-il-DL-alanina
	229. β -ciclopropil-L-alanina
30	230. ciclopropil-DL-fenilglicina
	231. DL-deshidroarmentomicina
	232. 4,5-deshidro-L-leucina
	233. ácido L- α,γ -diaminobutírico (Dab-OH)
	234. ácido D- α,γ -diaminobutírico (D-Dab-OH)
35	235. ácido Di-L- α,γ -diaminobutírico (Dab()-OH)
	236. ácido Di-D- α,γ -diaminobutírico (D-Dab()-OH)
	237. ácido (<i>N</i> - γ -aliloxicarbonil)-L- α,γ -diaminobutírico (Dab(Aloc)-OH)
	238. ácido (<i>N</i> - γ)-L- α,γ -diaminobutírico (Dab()-OH)
	239. ácido (<i>N</i> - γ -1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etil)-L- α,γ -diaminobutírico (Dab(Dde)-OH)
40	240. ácido (<i>N</i> - γ -4-metiltritol)-L- α,γ -diaminobutírico (Dab(Mtt)-OH)
	241. ácido (<i>N</i> - γ)-D- α,γ -diaminobutírico (D-Dab()-OH)
	242. ácido (<i>N</i> - γ -1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etil)-D- α,γ -diaminobutírico (D-Dab(Dde)-OH)
	243. ácido (<i>N</i> - γ -4-metiltritol)-D- α,γ -diaminobutírico (D-Dab(Mtt)-OH)
	244. ácido L- α,β -diaminopropiónico (Dap-OH)
45	245. ácido D- α,β -diaminopropiónico (D-Dap-OH)
	246. ácido Di-L- α,β -diaminopropiónico (Dap()-OH)
	247. ácido Di-D- α,β -diaminopropiónico (D-Dap()-OH)
	248. ácido (<i>N</i> - β -aliloxicarbonil)-L- α,β -diaminopropiónico (Dap(Aloc)-OH)
	249. ácido (<i>N</i> - β)-L- α,β -diaminopropiónico (Dap()-OH)
50	250. β -(1-naftil)-D-alanina (D-1-Nal-OH)
	251. β -(2-naftil)-L-alanina (2-Nal-OH)
	252. β -(2-naftil)-D-alanina (D-2-Nal-OH)
	253. L-fenilglicina (Phg-OH)
	254. D-fenilglicina (D-Phg-OH)
55	255. L-propargilglicina
	256. sal de dicitlohexilamonio de L-propargilglicina
	257. D-propargilglicina
	258. sal de dicitlohexilamonio de D-propargilglicina
	259. β -(2-piridil)-L-alanina (L-2-piridilalanina)
60	260. β -(2-piridil)-D-alanina (D-2-piridilalanina)
	261. β -(3-piridil)-L-alanina (L-3-piridilalanina)
	262. β -(3-piridil)-D-alanina (D-3-piridilalanina)
	263. β -(4-piridil)-L-alanina (L-4-piridilalanina)
	264. β -(4-piridil)-D-alanina (D-4-piridilalanina)
65	265. β -(2-tienil)-L-alanina (Ti-OH)
	266. β -(2-tienil)-D-alanina (D-Ti-OH)

267. L-(2-tienil)glicina
 268. D-(2-tienil)glicina
 269. L-(3-tienil)glicina
 270. D-(3-tienil)glicina
 5 271. 5,5,5-trifluoro-DL-leucina
 272. 4,4,4-trifluoro-DL-valina
 273. ácido L-2-amino-3-(dimetilamino)propiónico (aza-L-leucina)
 274. ácido DL-2-amino-3-(dimetilamino)propiónico (aza-DL-leucina)
 275. ácido (N-β-1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etil)-L-α,β-diaminopropiónico (Dap(Dde)-OH)
 10 276. ácido (N-β-(2,4-dinitrofenil))-L-α,β-diaminopropiónico (Dap(Dnp)-OH)
 277. ácido (N-β-4-metiltritol)-L-α,β-diaminopropiónico (Dap(Mtt)-OH)
 278. ácido (N-β-)-L-α,β-diaminopropiónico (Dap()-OH)
 279. ácido (N-β-)-D-α,β-diaminopropiónico (D-Dap()-OH)
 280. ácido (N-β-1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etil)-D-α,β-diaminopropiónico (D-Dap(Dde)-OH)
 15 281. 2,5-dihidro-D-fenilglicina
 282. 2,4-dinitro-DL-fenilglicina
 283. 2-fluoro-DL-fenilglicina
 284. 4-fluoro-L-fenilglicina
 285. 4-fluoro-D-fenilglicina
 20 286. 3-fluoro-DL-valina
 287. 4-hidroxi-D-fenilglicina
 288. α-metil-DL-leucina
 289. β-(1-naftil)-L-alanina (1-Nal-OH)
 290. β-(1-naftil)-D-alanina (D-1-Nal-OH)
 25 **291. Ejemplos de variantes conservativas de ácido benzoico**
 292. ácido 2-amino-4-fluorobenzoico
 293. ácido 2-amino-5-fluorobenzoico
 294. ácido 2-amino-6-fluorobenzoico
 295. ácido 2-amino-5-yodobenzoico
 30 296. ácido 2-amino-3-metoxibenzoico
 297. ácido 2-amino-5-metoxibenzoico
 298. ácido 3-amino-4-metoxibenzoico
 299. ácido 4-amino-3-metoxibenzoico
 300. ácido 2-amino-3-metilbenzoico
 35 301. ácido 2-amino-5-metilbenzoico
 302. ácido 2-amino-6-metilbenzoico
 303. ácido 3-amino-2-metilbenzoico
 304. ácido 3-amino-4-metilbenzoico
 305. ácido 4-amino-3-metilbenzoico
 40 306. ácido 3-aminometilbenzoico (Mamb-OH)
 307. ácido 4-aminometilbenzoico (Pamb-OH)
 308. ácido 2-amino-3,4,5-trimetoxibenzoico
 309. ácido di-3,4-diaminobenzoico
 310. ácido di-3,5-diaminobenzoico
 45 311. ácido 4-metilaminobenzoico
 312. ácido 5-acetamido-2-aminobenzoico (ácido 5-acetamidoantranílico)
 313. ácido 2-aminobenceno-1,4-dicarboxílico
 314. ácido 3-aminobenceno-1,2-dicarboxílico
 315. ácido 2-aminobenzoico (2-Abz-OH)
 50 316. ácido 3-aminobenzoico (3-Abz-OH)
 317. ácido 4-aminobenzoico (4-Abz-OH)
 318. ácido 2-(2-aminobenzoil)benzoico
 319. ácido 2-amino-5-bromobenzoico
 320. ácido 2-amino-4-clorobenzoico
 55 321. ácido 2-amino-5-clorobenzoico
 322. ácido 2-amino-6-clorobenzoico
 323. ácido 3-amino-4-clorobenzoico
 324. ácido 4-amino-2-clorobenzoico
 325. ácido 5-amino-2-clorobenzoico
 60 326. ácido 2-amino-4,5-dimetoxibenzoico
 327. ácido 2-amino-3,5-dimetilbenzoico
 328. ácido 2-amino-4-fluorobenzoico
329. Varios aminoácidos aromáticos
 330. ácido di-2-amino-3-(2-aminobenzoil)propiónico
 65 331. ácido 4-aminocinámico (predominantemente *trans*)
 332. ácido 4-aminohipúrico

333. ácido 3-amino-2-naftoico
 334. ácido 4-aminooxanílico
 335. ácido (3-aminofenil)acético
 336. ácido (4-aminofenil)acético
 5 337. ácido 4-(4-aminofenil)butanoico
 338. ácido 3-amino-3-fenilpropiónico
 339. ácido (4-aminofeniltio)acético
 340. (2*R*,3*S*)-2-amino-3-(feniltio)butanoico
 341. Análogos de cisteína y metionina
 10 342. S-acetamidometil-L-penicilamina
 343. S-acetamidometil-D-penicilamina
 344. S-(2-aminoetil)-L-cisteína
 345. S-bencil-L-cisteína
 346. S-bencil-D-cisteína
 15 347. S-bencil-DL-homocisteína
 348. L-butionina
 349. L-butionin-sulfoximina
 350. DL-butionin-sulfoximina
 351. S-*n*-butil-L-cisteína
 20 352. S-*t*-butil-L-cisteína
 353. S-*t*-butil-D-cisteína
 354. S-carbamoil-L-cisteína
 355. S-carboxietil-L-cisteína
 356. S-carboximetil-L-cisteína
 25 357. ácido L-cisteico
 358. S-difenilmetil-L-cisteína
 359. L-etionina (ácido-2-amino-4-(etil(tio)butírico)
 360. D-etionina (ácido D-2-amino-4-(etil(tio)butírico)
 361. S-etil-L-cisteína
 30 362. S-tritil-L-homocisteína
 363. Di-L-homocistina
 364. cloruro de DL-metionin-metilsulfonio
 365. S-4-metoxibencil-L-penicilamina
 366. S-4-metoxibencil-L-penicilamina (Pen(4-MeOBzl)-OH)
 35 367. sal de dicitclohexilamonio de S-4-metilbencil-L-penicilamina (Pen(4-MeBzl)-OH.DCHA)
 368. S-metil-L-cisteína
 369. α-metil-DL-metionina
 370. S-(2-(4-piridil)etil)-L-cisteína
 371. S-(2-(4-piridil)etil)-DL-penicilamina
 40 372. Di-seleno-L-cistina
 373. L-selenometionina
 374. DL-selenometionina
 375. S-tritil-L-penicilamina
 376. S-tritil-D-penicilamina
 45 377. Di-L-cistatión
 378. Di-DL-cistationina
379. Ejemplos de variantes conservativas de serina, treonina y estatina
 380. ácido 2-amino-3-metoxipropiónico
 381. L-α-metilserina
 50 382. D-α-metilserina
 383. ácido (S)-2-amino-4-tritiloxibutanoico (Hse(Trt)-OH)
 384. ácido (RS)-2-amino-4-tritiloxibutanoico (DL-Hse(Trt)-OH)
 385. (S)-2-amino-3-benciloxipropiónico
 386. (R)-2-amino-3-benciloxipropiónico
 55 387. (2*S*,3*S*)-2-amino-3-etoxibutanoico
 388. ácido 2-amino-3-etoxibutanoico
 389. ácido 2-amino-3-etoxipropiónico
 390. ácido 4-amino-3-hidroxibutanoico
 391. ácido (R)-2-amino-3-hidroxi-3-metilbutanoico
 60 392. ácido (S)-2-amino-3-hidroxi-3-metilbutanoico
 393. ácido (RS)-2-amino-3-hidroxi-3-metilbutanoico
 394. ácido (3*S*,4*S*)-4-amino-3-hidroxi-6-metilheptanoico (Sta-OH)
 395. ácido (2*R*,3*R*)-3-amino-2-hidroxi-5-metilhexanoico
 396. ácido (2*R*,3*S*)-3-amino-2-hidroxi-5-metilhexanoico
 65 397. ácido (2*S*,3*R*)-3-amino-2-hidroxi-5-metilhexanoico
 398. ácido (2*S*,3*S*)-3-amino-2-hidroxi-5-metilhexanoico

399. ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxi-4-metilpentanoico
 400. ácido (2R,3S)-2-amino-3-hidroxi-4-metilpentanoico
 401. ácido (2S,3RS)-2-amino-3-hidroxi-4-metilpentanoico
 402. ácido 2-amino-3-hidroxipentanoico
 5 403. ácido (2S,3R)-3-amino-2-hidroxi-4-fenilbutanoico
 404. ácido (2R,3R)-3-amino-2-hidroxi-4-fenilbutanoico
 405. ácido (2S,3S)-2-amino-3-metoxibutanoico
 406. ácido 2-amino-3-metoxibutanoico
 407. ácido (S)-2-amino-3-metoxipropiónico
 10 **408. Varios aminoácidos alifáticos**
 409. ácido α-amino-1-adamantanopropiónico
 410. ácido 2-aminobiciclo[2.2.1]heptano-2-carboxílico (mezcla de isómeros)
 411. ácido 3-endo-aminobiciclo[2.2.1]heptano-2-endo-carboxílico
 412. ácido 3-endo-aminobiciclo[2.2.1]heptano-2-endo-carboxílico
 15 413. ácido 3-endo-aminobiciclo[2.2.1]hept-5-eno-2-endo-carboxílico
 414. ácido 1-aminociclobutano-1-carboxílico
 415. ácido 5-amino-1,3-ciclohexadieno-1-carboxílico
 416. ácido 1-aminociclohexano-1-carboxílico
 417. ácido (±)-*cis*-2-aminociclohexano-1-carboxílico
 20 418. ácido (±)-*trans*-2-aminociclohexano-1-carboxílico
 419. ácido *trans*-4-aminociclohexano-1-carboxílico
 420. ácido (±)-*cis*-3-aminociclohexano-1-carboxílico
 421. ácido *cis*-4-aminociclohexano-1-carboxílico
 422. ácido (±)-*cis*-2-aminociclohex-4-eno-1-carboxílico
 25 423. ácido (±)-*trans*-2-aminociclohex-4-eno-1-carboxílico
 424. ácido *cis*-4-aminociclohexano-1-acético
 425. ácido 1-aminociclopentano-1-carboxílico
 426. ácido (±)-*cis*-2-aminociclopentano-1-carboxílico
 427. ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
 30 428. ácido 2-aminoheptanoico
 429. ácido 7-aminoheptanoico
 430. ácido 6-aminoheptanoico (ácido 6-aminocaproico)
 431. ácido 5-aminolevulínico
 432. ácido *trans*-4-(aminometil)ciclohexano-1-carboxílico
 35 433. ácido 2-aminooctanoico
 434. ácido 8-aminooctanoico (ácido 8-aminocaprílico)
 435. ácido 3-(aminooxi)acético
 436. ácido 5-aminopentanoico
 437. ácido 11-aminoundecanoico
 40 **438. β-Aminoácidos**
 439. β-alanina (β-Ala-OH)
 440. L-β-homoalanina (β-homoAla-OH)
 441. (S)-N-ω-2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonil-L-β-homoarginina (β-homoArg(Pbf)-OH)
 442. N-ω-tosil-L-β-homoarginina (β-homoArg(Tos)-OH)
 45 443. γ-tritil-L-β-homoasparagina (β-homoAsn(Trt)-OH)
 444. γ-t-butiléster de ácido L-β-homoaspártico (β-homoAsp(OtBu)-OH)
 445. γ-benciléster de ácido L-β-homoaspártico (P-homoAsp(OBzl)-OH)
 446. Δ-t-butiléster de ácido L-β-homoglutámico (β-homoGlu(OtBu)-OH)
 447. δ-benciléster de ácido L-β-homoglutámico (β-homoGlu(OBzl)-OH)
 50 448. N-δ-tritil-L-β-homoglutamina (β-homoGln(Trt)-OH)
 449. O-t-butil-L-β-homohidroxiprolina (β-homoHyp(tBu)-OH)
 450. L-β-homoisoleucina (β-homolle-OH)
 451. DL-β-leucina (DL-β-Leu-OH)
 452. L-β-homoleucina (P-homoLeu-OH)
 55 453. L-N-ω-β-homolisina (β-homoLys()-OH)
 454. L-N-ω-2-benciloxycarbonil-β-homolisina (β-homoLys(Z)-OH)
 455. L-β-homometionina (β-homoMet-OH)
 456. L-β-fenilalanina (β-Phe-OH)
 457. D-β-fenilalanina (D-β-Phe-OH)
 60 458. L-β-homofenilalanina (β-homoPhe-OH)
 459. L-β-homoprolina (β-homoPro-OH)
 460. O-t-butil-L-β-homoserina (β-homoSer(tBu)-OH)
 461. O-bencil-L-β-homoserina (β-homoSer(Bzl)-OH)
 462. O-bencil-L-β-homotreonina (β-homoThr(Bzl)-OH)
 65 463. L-β-homotriptófano (β-homoTrp-OH)
 464. O-t-butil-L-β-homotirosina (β-homoTyr(tBu)-OH)

	465. L-β-homovalina (β-homoVal-OH)
	466. ácido (R)-3-amino-4-(3-benzotienil)butírico
	467. ácido (S)-3-amino-4-(3-benzotienil)butírico
	468. ácido 3-aminobiciclo[2.2.2]octano-2-carboxílico (mezcla de isómeros)
5	469. ácido (R)-3-amino-4-(4-bromofenil)butírico
	470. ácido (S)-3-amino-4-(4-bromofenil)butírico
	471. ácido (R)-3-amino-4-(2-clorofenil)butírico
	472. ácido (S)-3-amino-4-(2-clorofenil)butírico
	473. ácido (R)-3-amino-4-(3-clorofenil)butírico
10	474. ácido (S)-3-amino-4-(3-clorofenil)butírico
	475. ácido (R)-3-amino-4-(4-clorofenil)butírico
	476. ácido (S)-3-amino-4-(4-clorofenil)butírico
	477. ácido 3-amino-3-(4-clorofenil)propiónico
	478. ácido (R)-3-amino-4-(2-cianofenil)butírico
15	479. ácido (S)-3-amino-4-(2-cianofenil)butírico
	480. ácido (R)-3-amino-4-(3-cianofenil)butírico
	481. ácido (S)-3-amino-4-(3-cianofenil)butírico
	482. ácido (R)-3-amino-4-(4-cianofenil)butírico
	483. ácido (S)-3-amino-4-(4-cianofenil)butírico
20	484. ácido (R)-3-amino-4-(2,4-diclorofenil)butírico
	485. ácido (S)-3-amino-4-(2,4-diclorofenil)butírico
	486. ácido (R)-3-amino-4-(3,4-diclorofenil)butírico
	487. ácido (S)-3-amino-4-(3,4-diclorofenil)butírico
	488. ácido (R)-3-amino-4-(3,4-difluorofenil)butírico
25	489. ácido (S)-3-amino-4-(3,4-difluorofenil)butírico
	490. ácido (R)-3-amino-4-(2-fluorofenil)butírico
	491. ácido (S)-3-amino-4-(2-fluorofenil)butírico
	492. ácido (R)-3-amino-4-(3-fluorofenil)butírico
	493. ácido (S)-3-amino-4-(3-fluorofenil)butírico
30	494. ácido (R)-3-amino-4-(4-fluorofenil)butírico
	495. ácido (S)-3-amino-4-(4-fluorofenil)butírico
	496. ácido (R)-3-amino-4-(2-furil)butírico
	497. ácido (S)-3-amino-4-(2-furil)butírico
	498. ácido (R)-3-amino-5-hexenoico
35	499. ácido (S)-3-amino-5-hexenoico
	500. ácido (R)-3-amino-5-hexenoico
	501. ácido (S)-3-amino-5-hexenoico
	502. ácido (R)-3-amino-4-(4-yodofenil)butírico
	503. ácido (S)-3-amino-4-(4-yodofenil)butírico
40	504. ácido (R)-3-amino-4-(2-metilfenil)butírico
	505. ácido (S)-3-amino-4-(2-metilfenil)butírico
	506. ácido (R)-3-amino-4-(3-metilfenil)butírico
	507. ácido (S)-3-amino-4-(3-metilfenil)butírico
	508. ácido (R)-3-amino-4-(4-metilfenil)butírico
45	509. ácido (S)-3-amino-4-(4-metilfenil)butírico
	510. ácido (R)-3-amino-4-(1-naftil)butírico
	511. ácido (S)-3-amino-4-(1-naftil)butírico
	512. ácido (R)-3-amino-4-(2-naftil)butírico
	513. ácido (S)-3-amino-4-(2-naftil)butírico
50	514. ácido (R)-3-amino-4-(4-nitrofenil)butírico
	515. ácido (S)-3-amino-4-(4-nitrofenil)butírico
	516. ácido (R)-3-amino-4-pentafluorofenilbutírico
	517. ácido (S)-3-amino-4-pentafluorofenilbutírico
	518. ácido (R)-3-amino-6-fenil-5-hexenoico
55	519. ácido (S)-3-amino-6-fenil-5-hexenoico
	520. ácido (R)-3-amino-5-fenilpentanoico
	521. ácido (S)-3-amino-5-fenilpentanoico
	522. ácido (R)-3-amino-4-(3-piridil)butírico
	523. ácido (S)-3-amino-4-(3-piridil)butírico
60	524. ácido (R)-3-amino-4-(4-piridil)butírico
	525. ácido (S)-3-amino-4-(4-piridil)butírico
	526. ácido (R)-3-amino-4-(2-tienil)butírico
	527. ácido (S)-3-amino-4-(2-tienil)butírico
	528. ácido (R)-3-amino-4-(3-tienil)butírico
65	529. ácido (S)-3-amino-4-(3-tienil)butírico
	530. ácido 3-amino-3-(2-tienil)propiónico

531. ácido 3-amino-4,4,4-trifluorobutírico
532. ácido (*R*)-3-amino-4-(2-trifluorometilfenil)butírico
533. ácido (*S*)-3-amino-4-(2-trifluorometilfenil)butírico
534. ácido (*R*)-3-amino-4-(3-trifluorometilfenil)butírico
- 5 535. ácido (*S*)-3-amino-4-(3-trifluorometilfenil)butírico
536. ácido (*R*)-3-amino-4-(4-trifluorometilfenil)butírico
537. ácido (*S*)-3-amino-4-(4-trifluorometilfenil)butírico
538. ácido (*R*)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-acético
539. ácido (*S*)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-acético
- 10 540. ácido 1,2,5,6-tetrahidropiridin-3-carboxílico (guvacina)
541. clorhidrato de ácido H-L-β-Homopro-OH HCl (*S*)-2-(2-pirrolidinil)acético
542. ácido H-DL-β-Leu-OH (1)-3-amino-4-metilpentanoico
543. ácido H-DL-β-Homoleu-OH (1)-3-amino-5-metilcaproico
544. ácido H-DL-β-Phe-OH (1)-3-amino-3-fenilpropiónico
- 15 545. L-Homophe-OEt HCl
546. D-Homophe-OEt HCl
547. *N*-bencil-L-Homophe-OEt HCl
548. *N*-bencil-D-Homophe-OEt HCl
549. ácido (1)-3-(amino)-4-(4-bifenilil)butírico
- 20 550. clorhidrato de ácido (1)-3-amino-4-(4-bifenilil)butírico
551. clorhidrato de (*S*)-2-amino-4-ciclohexilbutirato (+)-etilico
552. clorhidrato de (*R*)-2-amino-4-ciclohexilbutirato (-)-etilico
- 553. *N*-α-metil-aminoácidos**
554. *N*-α-metil-L-alanina (MeAla-OH)
- 25 555. *N*-α-metil-D-alanina (D-MeAla-OH)
556. *N*-α-metil-L-aloisoleucina (MeAllole-OH)
557. *N*-α-metil-D-aloisoleucina (D-MeAllole-OH)
558. *N*-α-metil-*N*-ω-tosil-L-arginina (MeArg(Tos)-OH)
559. *N*-α-metil-*N*-ω-2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonil-D-arginina (D-MeArg(Pbf)-OH)
- 30 560. *N*-α-metil-*N*-ω-tosil-D-arginina (D-MeArg(Tos)-OH)
561. ácido *N*-α-metil-L-aspartico
562. β-*t*-butiléster de ácido *N*-α-metil-L-aspartico (MeAsp(OtBu)-OH)
563. ácido *N*-α-metil-D-aspartico
564. β-*t*-butiléster de ácido *N*-α-metil-D-aspartico (D-MeAsp(OtBu)-OH)
- 35 565. *N*-α-metil-4-cloro-L-fenilalanina (Me(4-Cl-Phe)-OH)
566. *N*-α-metil-4-cloro-D-fenilalanina (D-Me(4-Cl-Phe)-OH)
567. γ-*t*-butiléster de ácido *N*-α-metil-L-glutámico (MeGlu(OtBu)-OH)
568. γ-*t*-butiléster de ácido *N*-α-metil-D-glutámico (D-MeGlu(OtBu)-OH)
569. *N*-α-metilglicina (sarcosina; Sar-OH)
- 40 570. *N*-α-metil-*N*-im-tritil-L-histidina (MeHis(Trt)-OH)
571. *N*-α-metil-*N*-im-tritil-D-histidina (D-MeHis(Trt)-OH)
572. *N*-α-metil-*trans*-L-4-hidroxiprolina
573. *N*-α-metil-L-isoleucina (MeIle-OH)
574. *N*-α-metil-L-leucina (MeLeu-OH)
- 45 575. *N*-α-metil-D-leucina (D-MeLeu-OH)
576. *N*-α-metil-*N*-ε-*t*-L-lisina (MeLys()-OH)
577. *N*-α-metil-*N*-ε-2-clorobenciloxycarbonil-L-lisina (MeLys(2-Cl-Z)-OH)
578. *N*-α-metil-4-nitro-L-fenilalanina (MePhe(4-NO₂)-OH)
579. *N*-α-metil-L-norleucina (MeNle-OH)
- 50 580. *N*-α-metil-L-norvalina (MeNva-OH)
581. *N*-α-metil-L-fenilalanina (MePhe-OH)
582. *N*-α-metil-D-fenilalanina (D-MePhe-OH)
583. *N*-α-metil-L-fenilglicina (MePhg-OH)
584. *N*-α-metil-L-prolina
- 55 585. *N*-α-metil-O-bencil-L-serina (MeSer(Bzl)-OH)
586. sal de dicitohexilamonio de *N*-α-metil-O-bencil-L-serina (MeSer(Bzl)-OH.DCHA)
587. *N*-α-metil-O-*t*-butil-L-serina (MeSer(tBu)-OH)
588. *N*-α-metil-O-*t*-butil-L-treonina (MeThr(tBu)-OH)
589. *N*-α-metil-L-triptófano (MeTrp-OH)
- 60 590. *N*-α-metil-DL-triptófano (DL-MeTrp-OH)
591. *N*-α-metil-O-bencil-L-tirosina (MeTyr(Bzl)-OH)
592. *N*-α-metil-O-*t*-butil-L-tirosina (MeTyr(tBu)-OH)
593. *N*-α-metil-O-metil-L-tirosina (MeTyr(Me)-OH)
594. *N*-α-metil-O-bencil-D-tirosina (D-MeTyr(Bzl)-OH)
- 65 595. *N*-α-metil-L-valina (MeVal-OH)
596. *N*-α-metil-D-valina (D-MeVal-OH)

597. Aminoalcoholes

598. L-alaninol
 599. D-alaninol
 600. 2-aminobencilalcohol
 5 601. 3-aminobencilalcohol
 602. 4-aminobencilalcohol
 603. (*R*)-(-)-2-aminobutanol
 604. (*S*)-(+)-2-aminobutanol
 605. 4-aminobutanol
 10 606. 4-amino-2-butanol
 607. 2-amino-5-clorobencilalcohol
 608. (±)-*cis*-2-aminociclohexanol
 609. (±)-*trans*-2-aminociclohexanol
 610. *trans*-4-aminociclohexanol
 15 611. (1*R*,2*S*)-(-)-2-amino-1,2-difeniletanol
 612. (1*S*,2*R*)-(+)-2-amino-1,2-difeniletanol
 613. 2-(2-aminoetoxi)etanol
 614. Alcohol α-(1-aminoetil)-4-hidroxibencílico
 615. 2-amino-2-etil-1,3-propanodiol
 20 616. 6-aminohexanol
 617. 1-amino-4-(2-hidroxietyl)piperazina
 618. (1*R*,2*S*)-(+)-*cis*-1-amino-2-indanol
 619. (1*S*,2*R*)-(-)-*cis*-1-amino-2-indanol
 620. (1*S*,2*R*)-(+)-2-amino-3-metoxifenilpropanol
 25 621. (±)-*cis*-2-aminometilcicloheptanol
 622. (±)-1-aminometilciclohexanol
 623. (±)-*cis*-2-aminometilciclohexanol
 624. (±)-*trans*-2-aminometilciclohexanol
 625. (±)-*cis*-2-aminometilciclooctanol
 30 626. 6-amino-2-metil-2-heptanol (heptaminol)
 627. alcohol α-aminometil-3-hidroxibencílico (norfenilefrina)
 628. alcohol α-aminometil-4-hidroxibencílico (octopamina)
 629. alcohol α-aminometil-4-hidroxi-3-metoxibencílico (normetaefrina)
 630. 2-amino-2-metil-1,3-propanodiol
 35 631. 2-amino-2-metilpropanol (β-aminoisobutanol)
 632. (1*R*,2*R*)-(-)-2-amino-1-(4-nitrofenil)-1,3-propanodiol
 633. (1*S*,2*S*)-(+)-2-amino-1-(4-nitrofenil)-1,3-propanodiol
 634. 5-aminopentanol
 635. 1-amino-3-fenoxi-2-propanol
 40 636. (*R*)-(-)-2-amino-1-feniletanol
 637. (*S*)-(+)-2-amino-1-feniletanol
 638. 2-(4-aminofenil)etanol
 639. (1*R*,2*R*)-(-)-2-amino-1-fenil-1,3-propanodiol
 640. (1*S*,2*S*)-(+)-2-amino-1-fenil-1,3-propanodiol
 45 641. 3-amino-3-fenilpropanol
 642. (*RS*)-3-amino-1,2-propanodiol
 643. (*S*)-(+)-3-amino-1,2-propanodiol
 644. (*R*)-(-)-1-amino-2-propanol
 645. (*S*)-(+)-1-amino-2-propanol
 50 646. 3-amino-1-propanol
 647. *N*-ω-2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonil-L-argininol (Arg(Pbf)-ol)
 648. *N*-ω-tosil-L-argininol
 649. *N*-β-tritil-L-asparaginol (Asn(Trt)-ol)
 650. L-asparaginol (Asn-ol)
 55 651. *N*-β-tritil-D-asparaginol (D-Asn(Trt)-ol)
 652. D-asparaginol (D-Asn-ol)
 653. β-*t*-butiléster de L-aspartimol (Asp(OtBu)-ol)
 654. β-*t*-butiléster de D-aspartimol (D-Asp(OtBu)-ol)
 655. DL-4-clorofenilalaninol
 60 656. β-ciclohexil-L-alaninol
 657. *S*-*t*-butil-L-cisteinol (Cys(tBu)-ol)
 658. *S*-*t*-butil-D-cisteinol (D-Cys(tBu)-ol)
 659. 1,1-difenil-L-alaninol
 660. L-glutaminol (Gln-ol)
 65 661. *N*-γ-tritil-L-glutaminol (Gln(Trt)-ol)
 662. γ-*t*-butiléster de L-glutamol (Glu(OtBu)-ol)

	663. γ -benciléster de L-glutamol (Glu(OBzl)-ol)
	664. γ -t-butiléster de D-glutamol (D-Glu(OtBu)-ol)
	665. γ -benciléster de D-glutamol (D-Glu(OtBu)-ol)
	666. etanolamina (Gly-ol)
5	667. <i>N</i> -im- <i>t</i> -L-histidinol
	668. <i>N</i> -im-trítill-L-histidinol
	669. <i>N</i> -im-bencil-L-histidinol
	670. 1-hidroxietiletoxipiperazina
	671. <i>N</i> -(2-hidroxietil)piperazina
10	672. <i>N</i> -(2-hidroxietil)-1,3-propanodiamina
	673. 3-endo-hidroximetilbíciclo[2.2.1]hept-5-enil-2-endo-amina
	674. ($\pm$)- <i>cis</i> -2-hidroximetil-4-ciclohexenil-1-amina
	675. ($\pm$)- <i>cis</i> -2-hidroximetil-1-ciclohexilamina
	676. ($\pm$)- <i>trans</i> -2-hidroximetil-1-ciclohexilamina
15	677. ($\pm$)- <i>cis</i> -2-hidroximetil- <i>trans</i> -4-fenil-1-ciclohexilamina
	678. 3-hidroxipiperidina
	679. 4-hidroxipiperidina
	680. L-isoleucinol (Ile-ol)
	681. L-leucinol (Ieu-ol)
20	682. D-leucinol (D-Ieu-ol)
	683. L- <i>terc</i> -leucinol ((<i>S</i>)-(-)-2-amino-3,3-dimetil-1-butanol)
	684. <i>N</i> - ϵ - <i>t</i> -L-lisinol (Lys()-ol)
	685. <i>N</i> - ϵ -benciloxycarbonil-L-lisinol (Lys(Z)-ol)
	686. <i>N</i> - ϵ -2-clorobenciloxycarbonil-L-lisinol (Lys(2-Cl-Z)-ol)
25	687. <i>N</i> - ϵ - <i>t</i> -D-lisinol (D-Lys()-ol)
	688. <i>N</i> - ϵ -benciloxycarbonil-D-lisinol (D-Lys(Z)-ol)
	689. <i>N</i> - ϵ -2-clorobenciloxycarbonil-D-lisinol (D-Lys(2-Cl-Z)-ol)
	690. L-metioninol (Met-ol)
	691. D-metioninol (D-Met-ol)
30	692. (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-(-)-norefedrina
	693. (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-(+)-norefedrina
	694. L-norleucinol
	695. L-norvalinol
	696. L-fenilalaninol
35	697. D-fenilalaninol (D-Phe-ol)
	698. L-fenilglicinol (Phg-ol)
	699. D-fenilglicinol (D-Phg-ol)
	700. 2-(2-piperidil)etanol
	701. 2-(4-piperidil)etanol
40	702. 2-piperidilmetanol
	703. L-prolinol (Pro-ol)
	704. D-prolinol (D-Pro-ol)
	705. O-bencil-L-serinol (Ser(Bzl)-ol)
	706. O- <i>t</i> -butil-L-serinol (Ser(tBu)-ol)
45	707. O-bencil-D-serinol (D-Ser(Bzl)-ol)
	708. O- <i>t</i> -butil-D-serinol (D-Ser(tBu)-ol)
	709. O-butil-L-treoninol (Thr(tBu)-ol)
	710. O- <i>t</i> -butil-D-treoninol (Thr(tBu)-ol)
	711. O-butil-D-treoninol (Thr(tBu)-ol)
50	712. L-triptofanool (Trp-ol)
	713. D-triptofanool (D-Trp-ol)
	714. O-bencil-L-tirosinol (Tyr(Bzl)-ol)
	715. O- <i>t</i> -butil-L-tirosinol (Tyr(tBu)-ol)
	716. O-bencil-D-tirosinol (D-Tyr(Bzl)-ol)
55	717. L-valinol (Val-ol)
	718. D-valinol (D-Val-ol)
	719. Otros
	720. Norleucina
	721. Etionina
60	722. Ornitina
	723. ácido Thi-OH (-)-(R)-4-tiazolidin-carboxílico
	724. trimetiléster de 2-fosfonoglicina
	725. ácido iminodiacético
	726. ácido (1)-2-aminoheptanodioico
65	727. ácido (1)-2-aminopimélico
	728. ácido 2-[2-(amino)etoxi]etoxiacético

729. ácido 8-(amino)-3,6-dioxaoctanoico
 730. ácido 1-azetidin-3-carboxílico
 731. ácido (1*R*,4*S*)-(+)-4-(amino)-2-ciclopenteno-1-carboxílico
 732. cicloleucina
 5 733. homocicloleucina
 734. Lactama de Freidinger
 735. ácido 1,2,3,4-tetrahidronorharman-3-carboxílico
 736. ácido 4-(aminometil)benzoico
 737. ácido 3-(aminometil)benzoico
 10 738. ácido 4-Abz-OH 4-(amino)benzoico
 739. ácido 3-Abz-OH 3-(amino)benzoico
 740. ácido 2-Abz-OH 2-(amino)benzoico
 741. ácido 2-(amino)isobutírico
 742. ácido 12-(amino)dodecanoico
 15 743. ácido 8-(amino)caprílico
 744. ácido 7-(amino)enántico
 745. ácido 6-(amino)caproico
 746. ácido 5-(amino)pentanoico
 747. ácido 4-(amino)butírico
 20 748. ácido *N'*-diaminoacético
 749. ácido L-2,3-diaminopropiónico
 750. ácido *N*-β-L-2,3-diaminopropiónico
 751. ácido (*R*)-4-(amino)-3-(*Z*-amino)butírico
 752. ácido (*S*)-4-(amino)-3-(*Z*-amino)butírico
 25 753. HCl de 1,6-hexanodiamina
 754. -1,5-pentanodiamina
 755. *N*-*p*-fenilendiamina
 756. *N*-1,4-butanodiamina
 757. *N*-1,3-propanodiamina
 30 758. *N*-etilendiamina
 759. *N*-*N*-metiletilendiamina
 760. 1-piperazina
 761. 1-homopiperazina
- 35 El péptido puede ser un enantiómero L (que comprende aminoácidos L naturales). El péptido también puede ser un enantiómero D (que comprende aminoácidos D).
- El péptido puede comprender todos los aminoácidos L. Como alternativa, el péptido puede comprender todos los aminoácidos D. En algunos casos, el péptido puede comprender una mezcla de aminoácidos L y D. El péptido puede
 40 comprender principalmente aminoácidos L, pero una pequeña cantidad de aminoácidos D (por ejemplo, hasta 1, 2, 3, 4, 5 o 10 aminoácidos D). Asimismo, el péptido puede comprender principalmente aminoácidos D, pero una pequeña cantidad de aminoácidos L (por ejemplo, hasta 1, 2, 3, 4, 5 o 10 aminoácidos L).
- En particular, el péptido puede ser un enantiómero D de la SEQ ID NO: 14 (que comprende o consiste en la secuencia,
 45 o una variante, como se ha descrito anteriormente). Además, el péptido puede ser un péptido retro (aminoácidos L en orden inverso) o un péptido retro-inverso (aminoácidos D en orden inverso).
- Con respecto a la actividad antimicrobiana, el péptido puede presentar una concentración inhibidora mínima de 7 μM o inferior, Preferentemente, de 6 μM o inferior, más preferentemente, 5,5 μM o inferior para *E. coli*, *S. typhimurium*, *C.*
 50 *albicans*, *S. epidermidis*, *S. aureus* y *E. faecalis*. La concentración inhibidora mínima (CIM) es la concentración más baja de un agente antimicrobiano que inhibirá el crecimiento visible de un microorganismo tras la incubación durante la noche. Los métodos para determinar los valores de CIM son bien conocidos en la técnica. Dichos métodos incluyen el método de microdilución en caldo modificado, con un inóculo de 2-7 x 10⁵ bacterias por ml. Las placas se incuban a 37 °C durante la noche (12-18 horas) y la concentración de péptido a la que no se observa crecimiento se identifica
 55 como la CIM.
- Los péptidos pueden estar marcados. Por ejemplo, como se muestra en el Apéndice que se presenta a continuación, los péptidos pueden tener, por ejemplo, un marcador a -bA- bA-C (beta-alanina, beta-alanina, cisteína) o marcador -
 60 BB-k (Biotina) (beta-alanina, beta-alanina, lisina modificada con biotina unida a la cadena lateral).
- Los métodos para sintetizar péptidos son bien conocidos en la técnica, e incluyen tanto la síntesis en fase sólida como en fase líquida. Los péptidos se pueden sintetizar mediante métodos comúnmente usados como protección con *t*-Boc o Fmoc de grupos alfa-amino. Ambos métodos implican la síntesis por etapas, mediante la que se añade un solo aminoácido en cada etapa a partir del extremo C del péptido (véase, Coligan *et al.*, *Current Protocols in Immunology*,
 65 Wiley Interscience, 1991, Unidad 9). Los péptidos también pueden sintetizarse mediante los métodos de síntesis de péptidos en fase sólida bien conocidos que se describen en Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149, (1962), y Stewart

y Young, "Solid Phase Peptides Synthesis", (Freeman, San Francisco, 1969, pág. 27-62), usando un copoli(estireno-divinilbenceno) que contiene 0,1-1,0 mMol de aminas/g de polímero. Una vez completada la síntesis química, los péptidos pueden desprotegerse y escindirse del polímero mediante el tratamiento con anisol HF-10% líquido durante aproximadamente 1/4-1 hora a 0 °C. Tras la evaporación de los reactivos, los péptidos se extraen del polímero con una solución de ácido acético al 1 % que luego se liofiliza, produciendo el material en bruto. Normalmente, este se puede purificar mediante técnicas tales como la filtración en gel en Sephadex G-15 usando ácido acético al 5 % como disolvente. La liofilización de fracciones apropiadas de la columna producirá el péptido homogéneo o los derivados peptídicos, que luego se pueden caracterizar mediante técnicas convencionales tales como análisis de aminoácidos, cromatografía en capa fina, cromatografía líquida de alto rendimiento, espectroscopia de absorción ultravioleta, rotación molar, solubilidad, y cuantificarse mediante la degradación de Edman en fase sólida.

El péptido se añade al medio de cultivo a cualquier concentración apropiada que potencie el crecimiento de las especies micobacterianas de crecimiento lento. Las concentraciones óptimas pueden determinarse midiendo el crecimiento de una determinada especie en presencia de una variedad de concentraciones de péptidos. Por lo general, el péptido está presente en el medio de cultivo a una concentración final de al menos 5 µg/ml, preferentemente, al menos 10 µg/ml. El péptido puede estar presente a una concentración final de 5 µg/ml a 200 µg/ml, preferentemente, de 10 a 100 µg/ml. Más preferentemente, el péptido está presente a una concentración final de 10 a 50 µg/ml. Lo más preferentemente, el péptido está presente a una concentración final de 20 µg/ml a 50 µg/ml.

En algunos casos, el péptido puede estar presente a una concentración final de 5 µg/ml a 50 µg/ml o incluso de 5 µg/ml a 25 µg/ml.

Los péptidos pueden proporcionarse ya en el medio de cultivo. Como alternativa, el péptido se puede proporcionar por separado al medio de cultivo y se puede complementar en el medio de cultivo antes de su uso. En este escenario, el péptido puede almacenarse en solución o en forma seca. Cuando se almacena en forma seca, el péptido puede rehidratarse usando un disolvente apropiado antes de su uso.

En el método de la invención, el medio puede comprender dos o más péptidos catiónicos. Los péptidos catiónicos pueden ser cualquiera de los descritos anteriormente.

Uso de péptidos antimicrobianos catiónicos

La invención también proporciona el uso de péptidos antimicrobianos catiónicos para potenciar el crecimiento de células de una especie micobacteriana de crecimiento lento. Los péptidos y las especies/subespecies de micobacterias pueden ser cualquiera de las descritas anteriormente.

Método de selección sistemática

La presente invención también proporciona un método de selección sistemática para identificar péptidos que potencien el crecimiento de células de una especie micobacteriana de crecimiento lento. El método comprende cultivar las células de la especie micobacteriana de crecimiento lento en un medio de crecimiento que comprende el péptido y controlar el crecimiento de las células. El péptido tiene una longitud de 6 a 20 aminoácidos, incluye del 30 al 55 % de aminoácidos cargados positivamente y comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos. El péptido también comprende al menos un resto de valina, al menos un resto de isoleucina y/o al menos un resto de arginina. El péptido puede tener cualquiera de las características descritas anteriormente. La especie micobacteriana y el medio de crecimiento también pueden ser cualquiera de los descritos anteriormente.

El método comprende entonces proporcionar un resultado que identifique al péptido como potenciador del crecimiento de las células. El resultado puede ser el registro de información, por ejemplo, en un cuaderno de laboratorio. El resultado también puede ser información registrada en un ordenador.

El péptido se identifica como potenciador del crecimiento de las células si da lugar a una reducción en la fase de retraso y, opcionalmente, un aumento en la velocidad de división para una especie micobacteriana particular. Como se ha descrito anteriormente, la fase de retraso y la velocidad de división pueden determinarse a partir de la representación gráfica de la densidad óptica de un cultivo frente al tiempo. Los resultados se comparan con los valores de control, ya sea cuando un cultivo de micobacterias se desarrolla en las mismas condiciones en ausencia de cualquier complemento peptídico (control negativo), o cuando el cultivo se realiza en presencia de un péptido conocido por potenciar el crecimiento de las micobacterias (control positivo). El péptido conocido por potenciar el crecimiento de las micobacterias puede ser cualquiera de los identificados anteriormente.

Entonces, un péptido se identifica como potenciador del crecimiento de las micobacterias (a) si reduce la fase de retraso y, opcionalmente, aumenta la velocidad de división de las bacterias en comparación con el control negativo; o (b) si produce un tiempo de retraso similar o reducido, u, opcionalmente, una velocidad de división similar o mayor, en comparación con el control positivo. Un experto en la materia podría interpretar fácilmente los resultados e identificar si las fases de retraso y las velocidades de división son similares, menores o mayores.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

Ejemplos

5 Ejemplo 1

Usando *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP) como organismo diana, se seleccionó un banco de 109 péptidos enantioméricos L cortos y un péptido enantiomérico D (TiKa 14D) para determinar la capacidad de complementar medios definidos (véase más adelante) para producir efectos de crecimiento que produzcan biomasa más rápidamente que los inóculos idénticos de MAP sin adición de complemento.

Los efectos pueden definirse como:

- Una disminución significativa en el tiempo de retraso (es decir, el tiempo que requiere para recuperarse del subcultivo y comenzar a crecer exponencialmente). Con el inóculo bajo convencional, este es de al menos 5 días, pero existe evidencia de que esta fase también puede prolongarse mucho en inóculos bajos (véanse las Figuras 3 y 4).
- Un aumento en la velocidad de división.

En la Figura 1, se presentan los resultados durante un período de 20 días para una serie de péptidos (complementados a una concentración de 20 mg/ml (final)). Los complementos de TiKa (los péptidos antimicrobianos) que demostraron producir efectos positivos fueron 14D, 14L, 69, 86, 102 y 103 (véase el apéndice). Algunos suplementos de TiKa aumentaron la velocidad de división más de 1,5 veces y, en algunos casos, más de 2 veces. Todos los demás complementos de Tika (véase el apéndice para las secuencias) no produjeron un efecto significativamente positivo en el cultivo de ensayo.

Ejemplo 2

Se ensayó la actividad de los péptidos TiKa para una serie de especies y subespecies de micobacterias. La Figura 2 presenta los resultados para TiKa 14D (20 µg/ml) en *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* y *Mycobacterium vaccae*. Como se muestra en la figura, TiKa 14D tuvo efectos positivos en *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, pero no en

Mycobacterium vaccae.

Las especies de micobacterias que respondieron con efectos positivos en medios convencionales con TiKa añadido a una concentración óptima fueron:

- *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*;
- *Mycobacterium avium* subespecie *silvaticum*;
- *Mycobacterium avium* subespecie *hominissuis*;
- *Mycobacterium avium* subespecie *avium*;
- *Mycobacterium bovis* (incluyendo *Bacillus Calmette Guerin*); y
- *Mycobacterium tuberculosis*.

Las especies micobacterianas sin efectos observados, o con efectos observados negativos, con suplementos de TiKa añadidos a 20 µg/ml fueron:

- *Mycobacterium vaccae*;
- *Mycobacterium smegmatis*;
- *Mycobacterium celatum*;
- *Mycobacterium kansasii*;
- *Mycobacterium gordonae*;
- *Mycobacterium porcinum*;
- *Mycobacterium chelonii*; y
- *Mycobacterium flavescens*.

Ejemplo 3

Se ensayaron los efectos de TiKa 14D en cultivos con diferentes valores de DO₆₀₀ de partida. El TiKa 14D estaba presente a una concentración de 20 µg/ml.

Los resultados se presentan en la Figura 3. Como se muestra en esta figura, a una DO₆₀₀ inicial de 0,2, TiKa 14D redujo el tiempo hasta alcanzar una DO₆₀₀ de 0,6 en 7 días en relación con un control sin el complemento. A una DO₆₀₀ inicial de aproximadamente 0,4, TiKa 14D redujo el tiempo hasta alcanzar una DO₆₀₀ de 0,6 en 2 días en relación con el control sin el complemento.

Ejemplo 4

También se determinó el tiempo hasta la positividad (el tiempo desde la incubación del cultivo hasta la detección del crecimiento). La Figura 4 presenta un gráfico que muestra el tiempo hasta la positividad esperado (TTP) en relación con el % de todas las muestras que probablemente se detectarán usando el sistema de medios líquidos comercial BacTAlert (Biomérieux, Francia) (línea continua) [referencia: Tyrell *et al. J Clin Microbiol.* octubre de 2012; 50(10):3275-82], incluyendo el gráfico proyectado (línea discontinua) derivado de inóculos de ensayo seleccionados que comprenden diferentes cargas de MTB añadidas en paralelo a los medios con y sin TiKa14D. Los resultados muestran que el TTP disminuyó en los medios complementados con TiKa (en comparación con los medios de control) y que la intensidad relativa de este efecto aumentó a medida que disminuía la dosis de inóculo.

Ejemplo 5

Se ensayaron TiKa 14D y TiKa 102 para identificar la concentración óptima de complemento. Los resultados se presentan en la Figura 5A y B para concentraciones de hasta 80 µg/ml. Como se muestra en la Figura 5A, para TiKa 14D, se identificó que la concentración óptima era de 20 µg/ml, y para TiKa 102, se identificó que la concentración óptima era de 40 µg/ml. Por encima de la concentración óptima, la fase de retraso todavía se mejoró en relación con el control sin complemento, y el tiempo de duplicación también se redujo en relación con el control. Por debajo de la concentración óptima, la fase de retraso no se vio afectada (10 µg/ml de TiKa 14D) ni se inhibió en relación con el control (ligeramente para TiKa 14D a 5 µg/ml y para TiKa 102 a 20 µg/ml). Por debajo del óptimo, los efectos sobre la velocidad de división se redujeron proporcionalmente.

(Cabe señalar que la adición de TiKa aumentó inmediatamente la DO₆₀₀, inicial, desplazando la línea basal hacia arriba en relación con el control. Sin embargo, esto no fue específico, ya que el desplazamiento fue constante y proporcional a la concentración de TiKa añadida).

Ejemplo 6

Se ha demostrado la actividad de TiKa en los siguientes medios líquidos:

1. medio BacTAlert MP (Biomérieux, Francia);
2. medio MGIT960 (Becton Dickinson, EE.UU.);
3. medio modificado de Middlebrook 7H9 (referencia: Pozzato *et al. J. Microbiol. Methods.* marzo de 2011;84(3):413-7); y
4. medio modificado de Middlebrook 7H9 más piruvato sódico al 0,5 % (Sigma, RU)

También se ha demostrado la actividad de TiKa en los siguientes medios líquidos: medio POZ-A: medio modificado de Middlebrook 7H9 (como anteriormente) con agarosa de electroforesis al 1,6 % añadida (Sigma, RU). Los resultados en este medio se muestran en la Figura 6.

Apéndice

SEQ ID NO	Secuencia	SEQ ID NO	Secuencia	SEQ ID NO	Secuencia
1	RKWKIKWYW	41	RIKRWVWWR	78	LLGDFFRKSKEKIGFKRIVQRIKDFLRNLVPTES
2	RLWWKIWLK	42	RLRRIVVIRVFR	79	RRWKIVVIRWRR
3	WKWRVVRTI	43	RLWRIVVIRVFR	80	KLWWMIRRW
4	RWWRKIWKW	44	RRWKIVVIRWRR	81	RLARIVPIRVAR
5	FFIYVWRRR	45	RRWWKWWWR	86	RRWRIVVIRVRR-ba-ba-C
6	YRLRVKWKW	46	RRYHWRIYI	87	RRWRIVVIRVRR-ba-ba-C(Met)
7	RIRRWKFRW	47	RWRKWWWW	88	KRWIRVIRVIRK-ba-ba-C
8	RQRRVVIWW	48	RWRWRKWW	89	KRWIRVIRVIRK-ba-ba-C(Met)
9	KRRRWIWL	49	VRLRIRVIRK	90	KRWKWRW-ba-ba-C
10	RTKKWIVWI	50	YKFRWRIYI	91	KRWKWRW-ba-ba-C(Met)
11	LRRWIRIRW	51	FIKWKRRWKKRT	92	RRWKIVVIRWRR
12	RRRIKIRWY	52	FIKWRFRWKKRT	93	FITC-ba-ba-ba-GATPDLNQKLS
13	YKWKIRFKR	53	FIKWSRWKKRT	94	FITC-ba-ba-ba-RRWKIVVIRWRR
14	KKIVFWRRR	54	FIKWRFRWKKRK	95	FITC-ba-ba-ba-RLARIVPIRVAR
15	RRWRIVKW	55	FIKWKFRWKKRT	96	RWWKIWVIRWRR
16	RLKRWKFL	56	FIKRSRWKKWRT	97	RLCRIVVIRVCR
17	KFKWRMLJ	57	ILKWKRWKWF	98	VRLRIRVIRVIRK
18	WKWLKKWIK	58	ILKWKGWKWF	99	KLWWMIRRW
19	WRKFWKYLK	59	ILKWKRWKWR	100	HQWRIRVAVRRH
20	KWKWWRKI	60	ILKWKIFKWF	101	RLARIVPIRVAR-BB-k (biotina)
21	RRWRVWVW	61	ILKWKTKWKF	102	RRWRIVVIRVRR-BB-k (biotina)
22	IRMRIRVLL	62	ILKWKMFKWF	103	RLARIVPIRVAR-BB-k (biotina)
23	RWIRIRWH	63	ILPWKPWPWPWR	104	ILPWKPWPWPWR-BB-k (biotina)
24	LKRRWKWI	64	RLARIVPIRVAR	108	KLWWMIRRW
25	KKKRKFkW	65	RGARIVPIRVAR	110	VQLRIRVAVIRA
26	RRRWKLM	66	RRARIVPIRVAR	111	KTCENLADY
27	RLWWWRK	67	RLWRIVVIRVAR	112	FIKWKFRWTKWRK
28	RKFRWVIR	68	RLRRIVVIRVAR	113	FIVKFRWTKWRK

ES 2 720 527 T3

29	RWRWWRVY
30	WFKMRWWGR
31	FIKWKFRWWKWRK
32	HQFRFRVRRK
33	ILPWKWRWWKWRR
34	ILRWKWRWWWR
35	KIWWWRKR
36	KRWWKWRR
37	KRWRKWRR
38	KRWWWRFR
39	LRFILWKR
40	NWRKLYRRK

69	RRWRIVVIRRR
70	RLARIVVIRRR
71	RLWRIVVIRVKR
72	RLARIVVIRWAR
73	RWRRWKWWL
74	KRWWKWRR
75	FRRWKWFK
76	VRWRIRVAVIRA
77	VRLRIRVAVIRA

114	FIKWKFRWSKWRK
115	FIKWKFRWVKWRK
116	FIKWKFRWWKWRK
117	ILKWKWPWWKWRR

-bA-bA-C **beta-alanina, beta-alanina, cisteína**
-BA-K(biotina) **beta alanina, beta-alanina, lisina con biotina**
-bA-bA-C(Met) **beta-alanina, beta-alanina, metil-cisteína**
FITC **Isotiocinato de fluoresceína**

REIVINDICACIONES

1. Un método para potenciar el crecimiento de células de una especie micobacteriana de crecimiento lento, que comprende cultivar las células en un medio de crecimiento que comprende un péptido antimicrobiano catiónico, péptido que:
 - (a) tiene una longitud de 6 a 20 aminoácidos;
 - (b) incluye del 30 al 55 % de restos cargados positivamente;
 - (c) comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos;
 - (d) comprende al menos un resto de valina, al menos un resto de isoleucina y/o al menos un resto de arginina; y
 - (e) reduce la fase de retraso para el crecimiento de la especie micobacteriana en comparación con un control que carece del péptido antimicrobiano.
2. El método de la reivindicación 1, en el que las células son de una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene o se sabe que tiene una infección con una especie micobacteriana de crecimiento lento.
3. El método de la reivindicación 2, en el que:
 - (a) las células proceden de una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene una infección con una especie micobacteriana de crecimiento lento, y el número de células en la muestra inicial del sujeto es demasiado bajo para permitir la determinación de la especie, subespecie o resistencia a antibióticos bacterianas, opcionalmente, en el que el método comprende además la identificación de la especie, subespecie y/o resistencia a los antibióticos micobacterianas tras el crecimiento de las células; o
 - (b) las células proceden de una muestra de un sujeto que se sabe que tiene una infección con una especie micobacteriana de crecimiento lento y el método comprende además controlar el progreso de la infección.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que:
 - (a) la especie micobacteriana de crecimiento lento es *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium leprae*, opcionalmente, en el que *Mycobacterium avium* es *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, *Mycobacterium avium* subespecie *silvaticum*,
 - (b) *Mycobacterium avium* subespecie *hominissuis* o *Mycobacterium avium* subespecie *avium*; o
 - (c) el péptido presenta una concentración inhibidora mínima de 5,5 µM o inferior para *E. coli*, *S. typhimurium*, *C. albicans*, *S. epidermidis*, *S. aureus* y *E. faecalis*.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:
 - (a) el péptido comprende la secuencia WKIVFWRR (SEQ ID NO: 14);
 - (b) el péptido consiste en la secuencia de la SEQ ID NO: 14; o
 - (c) el péptido comprende o consiste en una variante de la SEQ ID NO: 14, variante que conserva la misma proporción de restos cargados positivamente y restos hidrófobos, opcionalmente, en el que la variante conserva restos hidrófobos en las posiciones correspondientes a los restos 1, 3, 4, 5, 6 y 7 de la SEQ. ID NO: 14, y restos cargados positivamente en las posiciones correspondientes a los restos 2, 8 y 9 de la SEQ ID NO: 14, preferentemente, en el que cualquiera de las sustituciones en la variante con respecto a la SEQ ID NO: 14 son sustituciones conservativas.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:
 - (a) el péptido comprende la secuencia RRWRIVVIRVRR (SEQ ID NO: 69);
 - (b) el péptido consiste en la secuencia de la SEQ ID NO: 69; o
 - (c) el péptido comprende o consiste en una variante de la SEQ ID NO: 69, variante que conserva la misma proporción de restos cargados positivamente y restos hidrófobos, opcionalmente, en el que la variante conserva restos hidrófobos en las posiciones correspondientes a los restos 3, 5, 6, 7, 8 y 10 de la SEQ. ID NO: 69, y restos cargados positivamente en las posiciones correspondientes a los restos 1, 2, 4, 9, 11 y 12 de la SEQ ID NO: 69, preferentemente, en el que cualquiera de las sustituciones en la variante con respecto a la SEQ ID NO: 69 son sustituciones conservativas.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que:
 - (a) el péptido comprende la secuencia RLARIVVIRVAR-BB-K (biotina) (SEQ ID NO: 103);
 - (b) el péptido consiste en la secuencia de la SEQ ID NO: 103; o
 - (c) el péptido comprende o consiste en una variante de la SEQ ID NO: 103, variante que conserva la misma proporción de restos cargados positivamente y restos hidrófobos, opcionalmente, en el que la variante conserva restos hidrófobos en las posiciones correspondientes a los restos 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10 y 11 de la SEQ. ID NO: 103, y restos cargados positivamente en las posiciones correspondientes a los restos 1, 4, 9 y 12 de la SEQ ID NO: 103, preferentemente, en el que cualquiera de las sustituciones en la variante con respecto a la SEQ ID NO: 103 son

sustituciones conservativas.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el péptido es un enantiómero D, un péptido retro o un péptido retroinverso, opcionalmente, en el que el péptido es un enantiómero D de un péptido como se define en la reivindicación 5.

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:

- (a) el péptido está presente a una concentración final de al menos 10 µg/ml en el medio, opcionalmente, en el que el péptido está presente a una concentración final de 10-100 µg/ml; o
- (b) el medio comprende dos o más de dichos péptidos antimicrobianos catiónicos.

10. Un método para diagnosticar una sospecha de infección por especie micobacteriana de crecimiento lento en un sujeto, comprendiendo dicho método:

- (a) cultivar células de la especie micobacteriana de crecimiento lento de una muestra obtenida del sujeto sospechoso de tener dicha infección cultivando las células en un medio de crecimiento que comprende uno o más péptidos antimicrobianos catiónicos como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 5-8; y
- (b) identificar la especie, subespecie y/o resistencia a los antibióticos micobacterianas tras el crecimiento de las células, y diagnosticar así la infección.

11. Un método para controlar el progreso de una infección por especie micobacteriana de crecimiento lento en un sujeto, comprendiendo dicho método:

- (a) cultivar células de una muestra obtenida del sujeto que se sabe que tiene dicha infección en un medio de crecimiento que comprende uno o más péptidos antimicrobianos catiónicos como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 5-8;
- (b) analizar el crecimiento de las células o las características de las células después del crecimiento; y
- (c) repetir las etapas (a) y (b).

12. Uso de un péptido antimicrobiano catiónico como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 5-8 para potenciar el crecimiento de células de una especie micobacteriana de crecimiento lento.

13. El uso de la reivindicación 12, en el que:

- (a) la especie micobacteriana de crecimiento lento es *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium leprae*, opcionalmente, en el que *Mycobacterium avium* es *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, *Mycobacterium avium* subespecie *silvaticum*, *Mycobacterium avium* subespecie *hominissuis* o *Mycobacterium avium* subespecie *avium*;
- (b) se usan dos o más de dichos péptidos antimicrobianos catiónicos para potenciar el crecimiento; y/o
- (c) el péptido está presente en el medio de crecimiento de las bacterias a una concentración final de al menos 10 µg/ml, opcionalmente, en el que el péptido está presente a una concentración final de 10-100 µg/ml.

14. Un método de selección sistemática de un péptido que potencie el crecimiento de las células de una especie micobacteriana de crecimiento lento, comprendiendo dicho método cultivar células de la especie micobacteriana de crecimiento lento en un medio de crecimiento que comprende el péptido y controlar el crecimiento de las células, en el que el péptido es:

- (a) de una longitud de 6 a 20 aminoácidos;
- (b) incluye del 30 al 55 % de aminoácidos cargados positivamente;
- (c) comprende del 45 al 70 % de restos hidrófobos; y
- (d) comprende al menos un resto de valina, al menos un resto de isoleucina y/o al menos un resto de arginina,

y proporcionar un resultado que identifique al péptido como potenciador del crecimiento de las células, en el que el péptido reduce la fase de retraso y, opcionalmente, aumenta la velocidad de división de las células, en comparación con el crecimiento de las células en un medio de cultivo en ausencia de cualquier péptido.

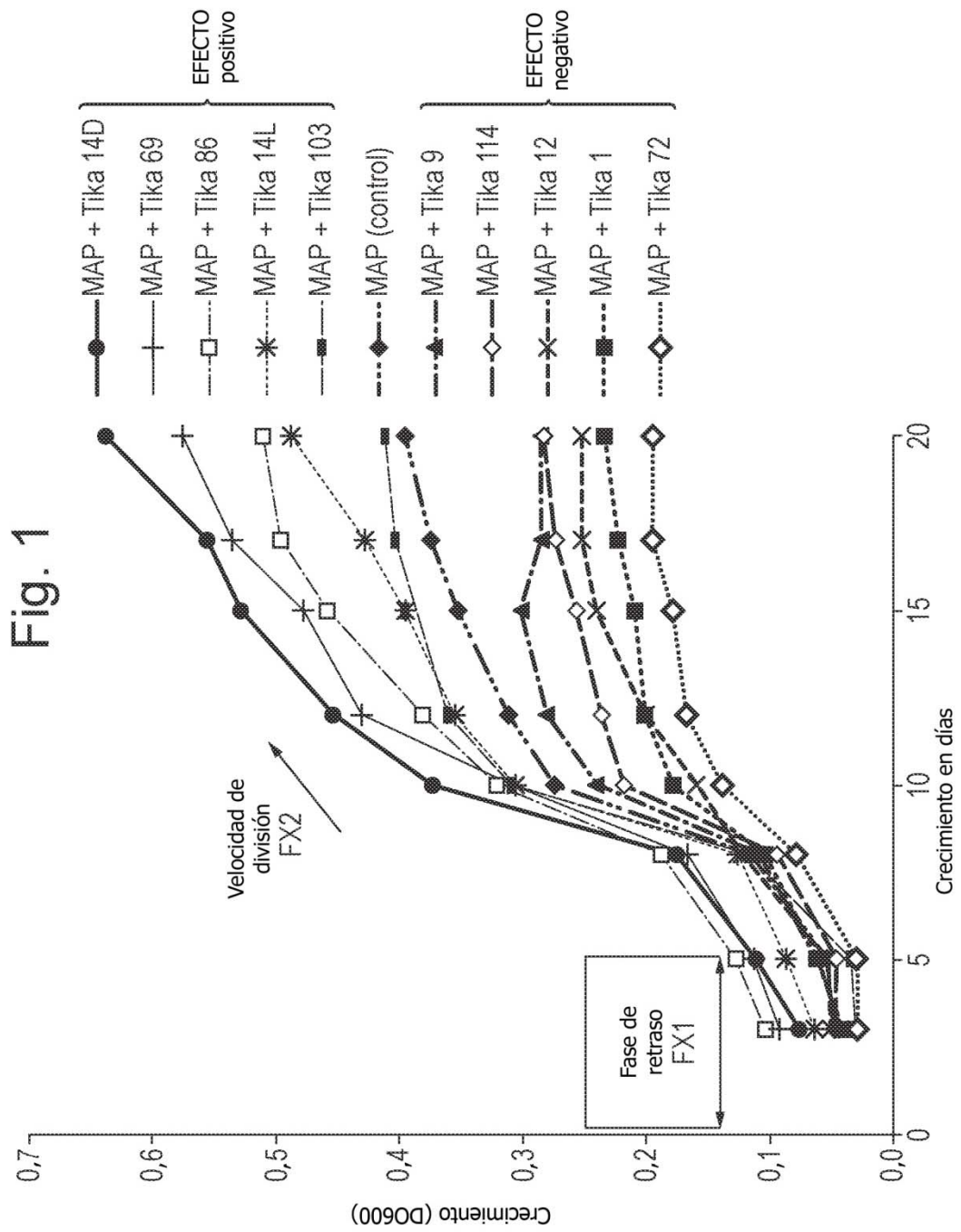


Fig. 2

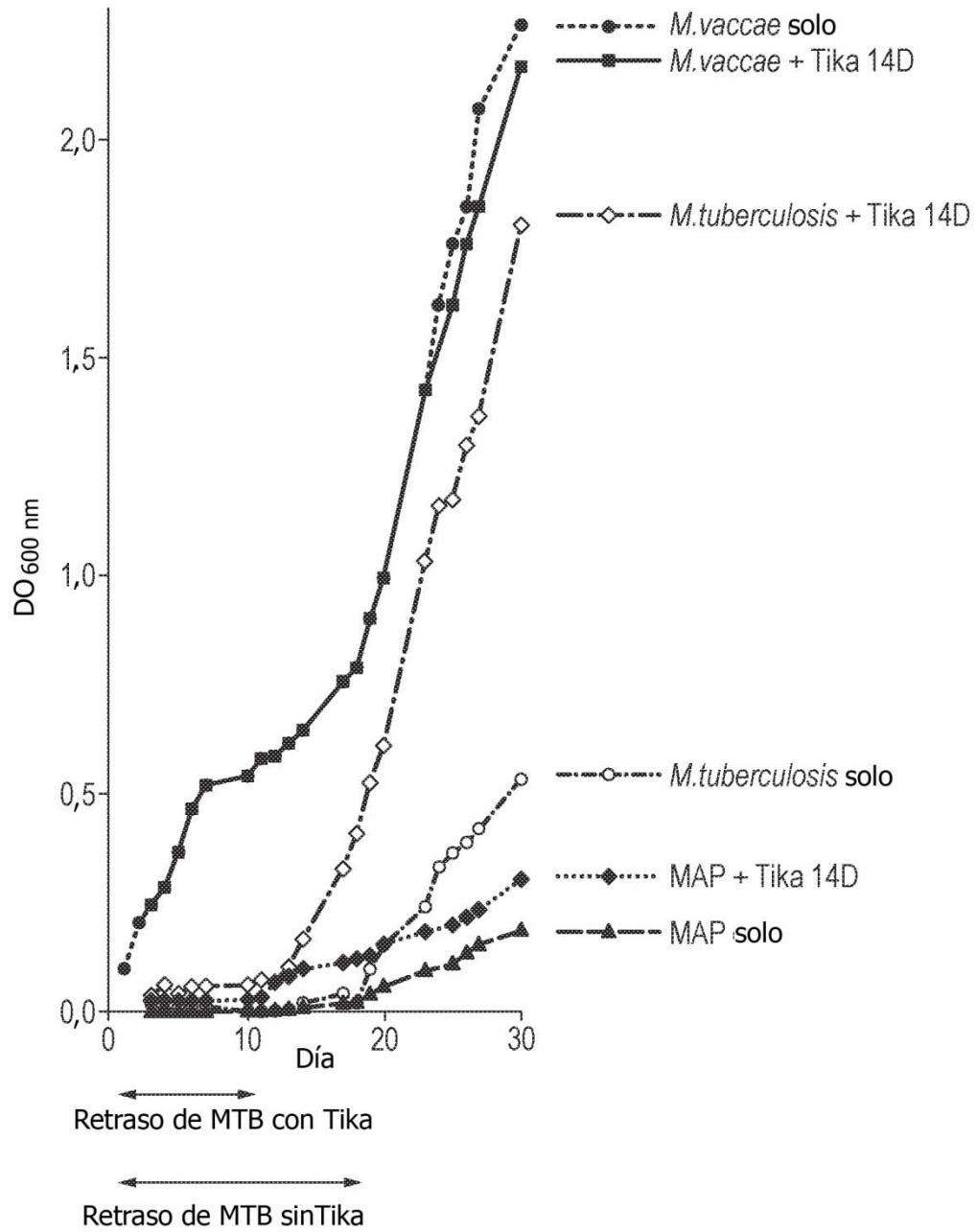


Fig. 3

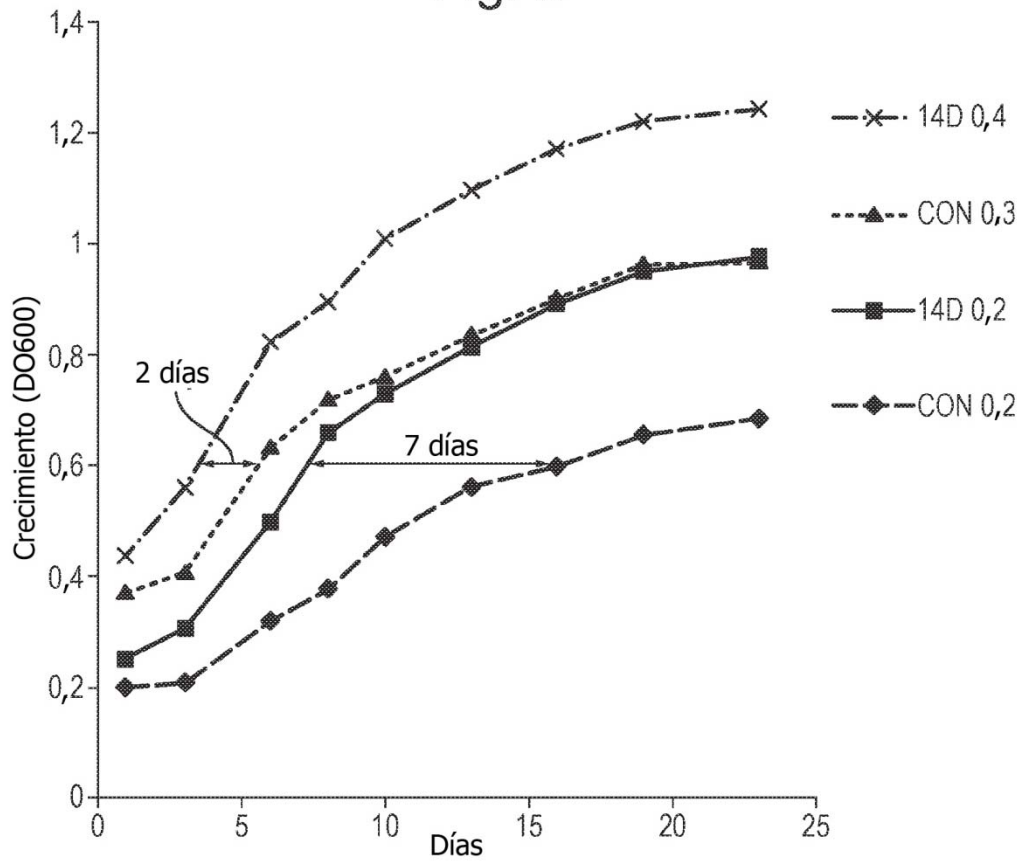


Fig. 4

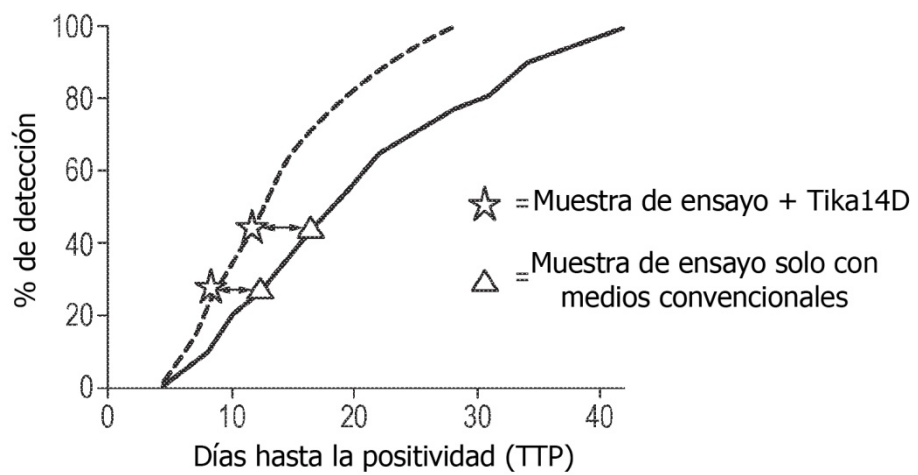


Fig. 5A

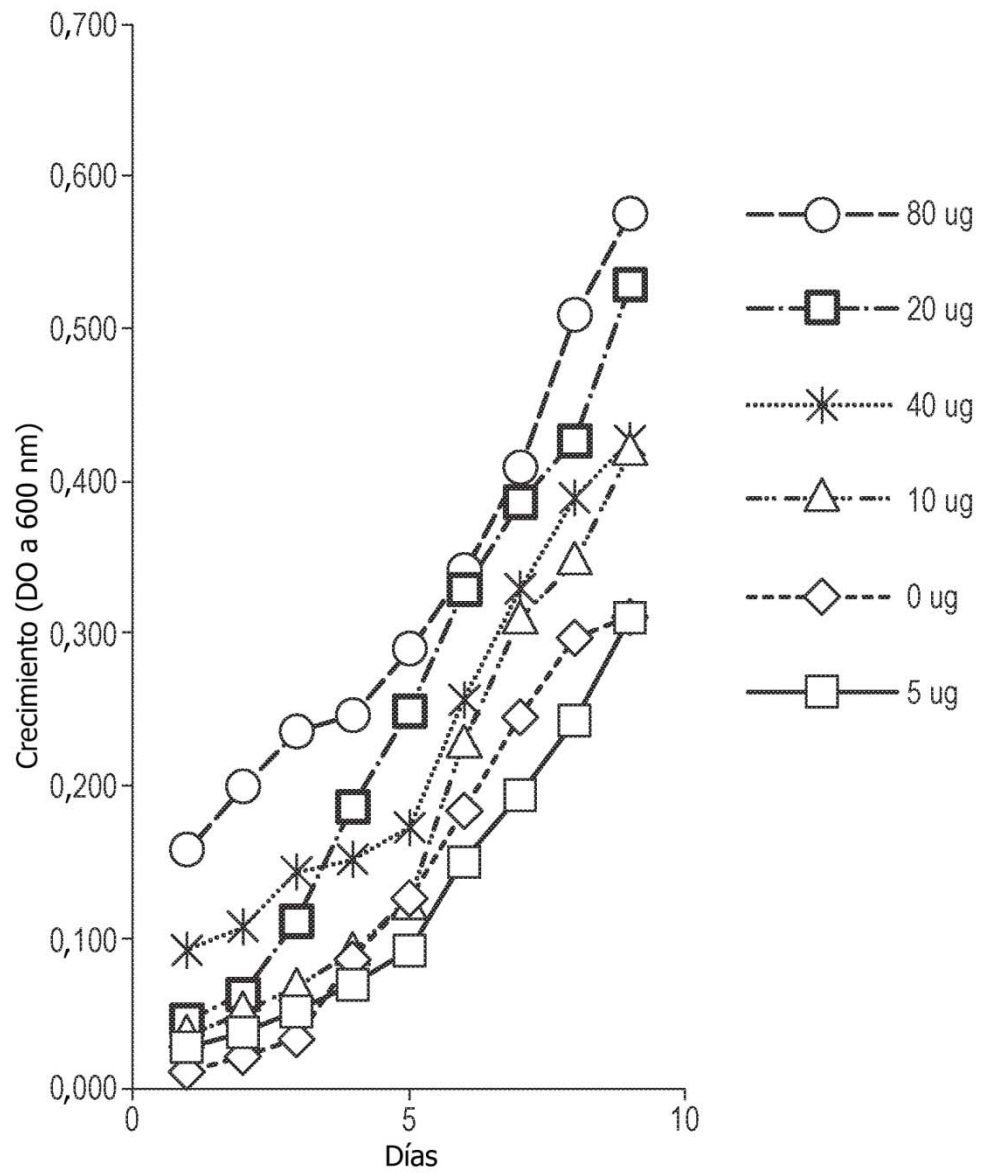


Fig. 5B

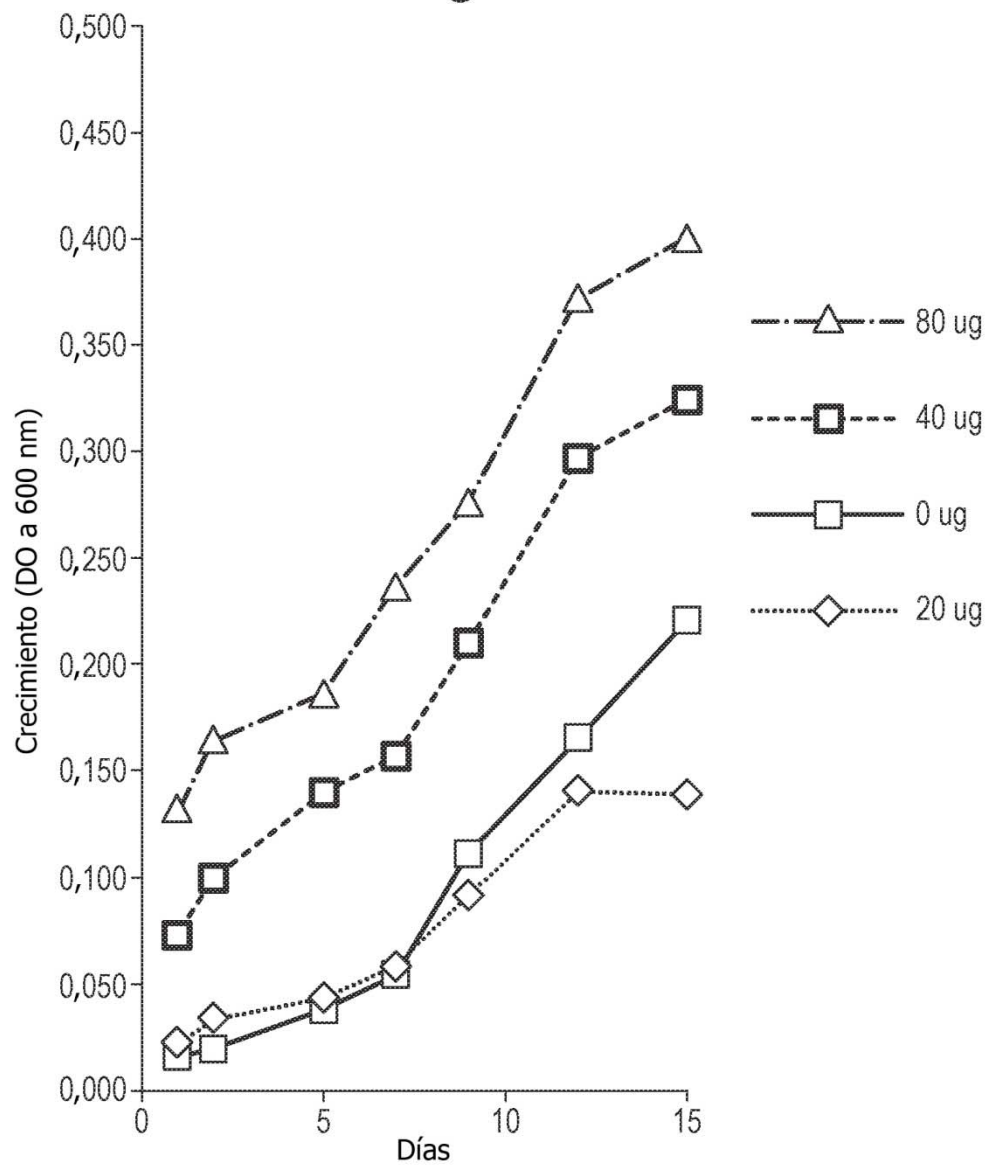
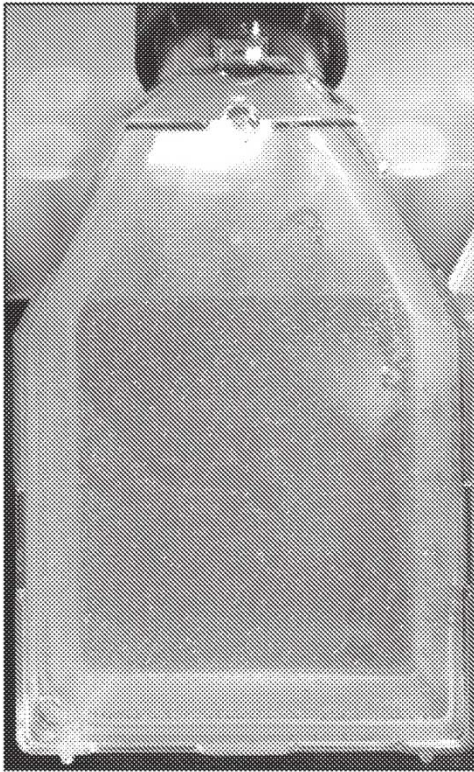
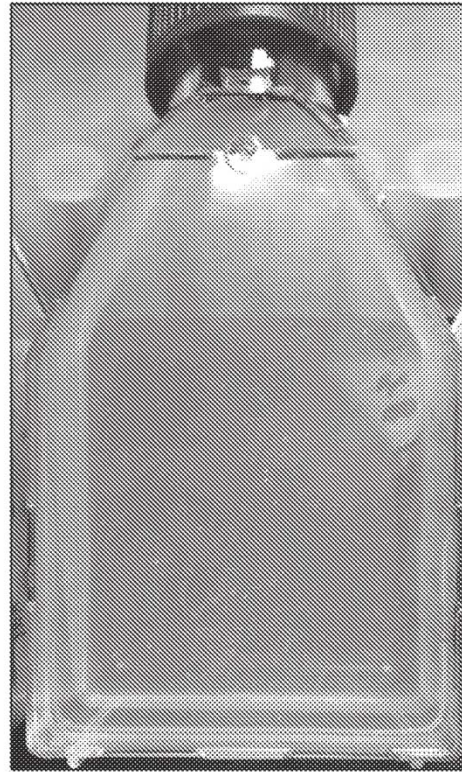


Fig. 6



Cultivo de POZ-A con Tika14D



Cultivo de POZ-A solo