

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 313**

51 Int. Cl.:

A61K 38/08	(2009.01)
A61K 38/10	(2006.01)
A61K 31/145	(2006.01)
C07K 7/08	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)
A61P 31/04	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2011 PCT/GB2011/000480**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.10.2011 WO11121289**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2011 E 11730384 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2552434**

54 Título: **Péptidos y su uso**

30 Prioridad:

05.10.2010 US 390081 P
05.10.2010 GB 201016733
31.03.2010 WO PCT/GB2010/000631

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.10.2019

73 Titular/es:

NOVABIOTICS LIMITED (100.0%)
The Cruickshank Building, Craibstone
Aberdeen AB21 9TR, GB

72 Inventor/es:

O'NEIL, DEBORAH;
MERCER, DERRY y
CHARRIER, CEDRIC

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 729 313 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

Péptidos y su uso

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un péptido, composiciones que comprenden el péptido y su uso como un medicamento. También se proporciona un sustrato al que se ha aplicado el péptido o la composición.

10 Antecedentes de la Invención

Los péptidos antimicrobianos son moléculas efectoras clave del sistema inmunitario innato y componentes integrales de la primera línea de defensa contra las infecciones microbianas de todos los organismos eucariotas. Una serie de organismos procaríotas también utilizan péptidos antimicrobianos como medios para competir contra el reto de otros microorganismos. Muchos péptidos antimicrobianos se caracterizan por propiedades catiónicas que facilitan las interacciones con los fosfolípidos cargados negativamente de la membrana microbiana lo que conduce después a la lisis microbiana y a la muerte tras la permeabilización de la membrana. Por ejemplo, se ha demostrado que las moléculas de péptidos antimicrobianos pueden agregarse y formar canales dependientes de voltaje en la bicapa lipídica lo que resulta en la permeabilización tanto de la membrana interna como de la externa del microorganismo (Lehrer, R. I., J. Clin. Investigation, 84:553 (1989)). La naturaleza anfífilica de estas moléculas puede también facilitar la inserción del residuo hidrófobo en la bicapa lipídica mediante atracción electrostática mientras que los residuos polares se proyectan hacia dentro y por encima de la membrana.

Los microorganismos resistentes a fármacos, especialmente las bacterias, se hacen cada vez más problemáticos ya que las tasas de infección continúan elevándose y los métodos de control eficaces se hacen más y más limitados. El uso prolífico de antibióticos durante los últimos 50 años, junto con la prescripción indiscriminada de antibióticos y el incumplimiento de los pacientes con los regímenes de tratamiento, han seleccionado microorganismos que han desarrollado o adquirido maneras de superar los efectos de los antibióticos. La transmisión y el control de los organismos resistentes a fármacos es actualmente uno de los problemas más significativos dentro de la asistencia médica.

Todos los géneros Gram positivos, con la inclusión de *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Nocardia* spp., *Bacillus* spp. y *Streptococcus* spp., con la inclusión de aquellos que han desarrollado u obtenido niveles variables de resistencia a antibióticos tales como la meticilina (meticilina), son de particular interés al igual que los géneros Gram negativos *Escherichia* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. y *Acetivobacter* spp. Otros patógenos Gram negativos de interés incluyen las Enterobacteriaceae (especialmente aquellas que producen β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) o carbapenemasa). Los estafilococos coagulasa negativos, como *S. epidermidis*, también han surgido como importantes patógenos nosocomiales resistentes a los fármacos. Las opciones de tratamiento para las infecciones a las que contribuyen o causan las bacterias resistentes a la meticilina o a múltiples fármacos son ahora limitadas y existe una necesidad urgente de descubrir nuevas terapias que inhiban o eliminen a dichos organismos. Otros patógenos bacterianos de particular interés incluyen *Mycobacterium* spp., por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*;

Enterobacter spp.; *Campylobacter* spp.; *Salmonella* spp.; *Helicobacter* spp., por ejemplo, *Helicobacter pylori*; *Neisseria* spp., por ejemplo *Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*; *Borrelia burgdorferi*; *Shigella* spp., por ejemplo, *Shigella flexnerii*; *Haemophilus* spp., por ejemplo, *Haemophilus influenzae*; *Chlamydia* spp., por ejemplo, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*; *Francisella tularensis*; *Yersinia* spp., por ejemplo, *Yersinia pestis*; *Treponema* spp.; *Burkholderia* spp.; por ejemplo, *Burkholderia mallei* y *B. pseudomallei*.

La *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista que causa infecciones del tracto respiratorio, infecciones del tracto urinario, dermatitis, infecciones de tejidos blandos, bacteremia y una variedad de infecciones sistémicas, particularmente en pacientes con quemaduras graves y en pacientes con cáncer y SIDA que están inmunodeprimidos. Las infecciones respiratorias que causa la *Pseudomonas aeruginosa* se producen casi exclusivamente en individuos con un tracto respiratorio inferior comprometido o un mecanismo de defensa sistémico comprometido (por ejemplo, en pacientes con fibrosis quística o enfermedad pulmonar obstructiva crónica). La neumonía primaria se produce en pacientes con enfermedad pulmonar crónica e insuficiencia cardíaca congestiva. La neumonía bacterémica se produce comúnmente en pacientes con cáncer neutropénico que están sometidos a quimioterapia. En los pacientes con fibrosis quística, la colonización del tracto respiratorio inferior por cepas mucosas de *Pseudomonas aeruginosa* es común y difícil de tratar. Existe la necesidad de desarrollar una manera eficaz para tratar las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*.

El *Staphylococcus aureus* es un patógeno oportunista que normalmente se encuentra en la piel y en la nariz de muchas personas sanas, donde vive de forma completamente inofensiva. Sin embargo, *S. aureus* puede causar problemas cuando es capaz de ingresar al cuerpo y causar abscesos, forúnculos, granos, impétigo e infecciones de heridas, ya sean accidentales o quirúrgicas. Si la infección ingresa en el torrente sanguíneo y viaja a diferentes partes del cuerpo, puede causar envenenamiento de la sangre (septicemia), infección ósea (osteomielitis), infección de las válvulas cardíacas (endocarditis) e infección pulmonar (neumonía). El MRSA es un tipo de *S. aureus* que es resistente a muchos antibióticos de los que se prescriben comúnmente, incluida la meticilina (~ el 40 % de las infecciones por *S. aureus* en el Reino Unido son resistentes a la meticilina y a otros antibióticos), y en la prensa popular se le denomina "superbicho". El MRSA está

entre los microbios más prevalentes que se involucran en las infecciones asociadas a la atención médica. Las infecciones normalmente se limitan a los hospitales y, en particular, a los pacientes vulnerables y/o debilitados, con la inclusión de los pacientes en unidades de cuidados intensivos, en unidades de quemados y en salas de ortopedia. El MRSA es más difícil de tratar porque muchos antibióticos son ineficaces, y aquellos que son eficaces a menudo deben administrarse en dosis mucho más altas, por vía intravenosa, durante períodos de tiempo prolongados (varias semanas), lo cual destaca la necesidad de desarrollar terapias antimicrobianas alternativas.

Dado que los patógenos microbianos no adquieren fácilmente resistencia a los péptidos catiónicos, a pesar de la presión evolutiva de millones de años de coexistencia, ellos permanecen como objetivos terapéuticos atractivos. Por ejemplo, en nuestras solicitudes copendientes núms. WO 2006/018652 y WO 2008/093058, describimos la identificación de péptidos que pueden usarse para tratar infecciones microbianas que incluyen infecciones de bacterias.

Una biopelícula microbiana es una comunidad de células microbianas embebidas en una matriz extracelular de sustancias poliméricas y adheridas a una superficie biológica o no biótica. En estas biopelículas puede encontrarse una variedad de microorganismos (bacterias, hongos y/o protozoos, con bacteriófagos asociados y otros virus). Las biopelículas son de naturaleza ubicua y se encuentran comúnmente en una amplia gama de entornos. La comunidad científica y médica reconoce cada vez más que las biopelículas están implicadas en muchas infecciones, y especialmente su contribución a la recalcitrancia al tratamiento de la infección.

La formación de biopelículas no se limita únicamente a la capacidad de los microbios para adherirse a una superficie. Los microbios que crecen en una biopelícula son capaces de interactuar más entre sí que con el sustrato físico real sobre el cual se desarrolló inicialmente la biopelícula. Por ejemplo, este fenómeno favorece la transferencia de genes conjugativos, que se produce a una mayor velocidad entre las células en las biopelículas que entre las células planctónicas. Esto representa una mayor oportunidad para la transferencia horizontal de genes entre bacterias, y es importante porque puede facilitar la transferencia de genes de resistencia a antibióticos o de genes determinantes de virulencia de microbios resistentes a microbios susceptibles. Las bacterias pueden comunicarse entre sí mediante un sistema conocido como detección de quórum, a través del cual las moléculas de señalización se liberan hacia el medio ambiente y los microbios circundantes pueden detectar sus concentraciones. La detección de quórum permite a las bacterias coordinar su comportamiento, lo cual mejora sus capacidades para sobrevivir. Las respuestas a la detección de quórum incluyen la adaptación a la disponibilidad de nutrientes, la defensa contra otros microorganismos que pueden competir por los mismos nutrientes y la evitación de compuestos tóxicos potencialmente peligrosos para las bacterias. Es muy importante que las bacterias patógenas durante la infección de un huésped (por ejemplo, humanos, otros animales o plantas) coordinen su virulencia con el fin de escapar a la respuesta inmunitaria del huésped con el fin de poder establecer una infección exitosa.

La formación de biopelículas desempeña un papel clave en muchas enfermedades infecciosas, tales como la fibrosis quística y la periodontitis, en las infecciones del tracto urinario y del torrente sanguíneo y como consecuencia de la presencia de dispositivos médicos permanentes. Los mecanismos que se sugieren para explicar por qué los microorganismos asociados a biopelículas provocan enfermedades en sus huéspedes incluyen los siguientes: (i) penetración retardada del agente antimicrobiano a través de la matriz de la biopelícula, (ii) desprendimiento de células o agregados celulares desde las biopelículas de dispositivos médicos permanentes, (iii) producción de endotoxinas, (iv) resistencia al sistema inmunitario del huésped, (v) provisión de un nicho para la generación de organismos resistentes a través de la transferencia horizontal de genes de resistencia antimicrobiana y/o genes determinantes de virulencia, y (vi) tasa de crecimiento alterada (es decir, latencia metabólica) (Donlan y Costerton, Clin Microbiol Rev 15: 167-193, 2002; Parsek y Singh, Annu Rev Microbiol 57: 677-701, 2003; Costerton JW, Resistance of biofilms to stress. En 'The biofilm primer'. (Springer Berlin Heidelberg). pp. 56-64.2007).

Pruebas experimentales recientes han indicado la existencia dentro de las biopelículas de una pequeña subpoblación persistente de células especializadas que no están activas metabólicamente (células inactivas). Se cree que estas células pueden ser responsables de la alta resistencia/tolerancia de la biopelícula a los agentes antimicrobianos. Las células persistentes multitolerantes a fármacos están presentes tanto en poblaciones planctónicas como en biopelículas y parece que las levaduras y las bacterias han desarrollado estrategias análogas que asignan la función de supervivencia a esta subpoblación. La protección que ofrece la matriz polimérica permite que las células persistentes evadan la eliminación y sirvan como fuente para la repoblación. Existe evidencia de que las persistentes pueden ser en gran parte responsables de la tolerancia de las biopelículas microbianas a múltiples fármacos (LaFleur y otros, Antimicrob Agents Chemother. 50: 3839-46, 2006; Lewis, Nature Reviews Microbiology 5, 48-56 2007).

Por lo tanto, existe un requisito para otros agentes que puedan usarse para tratar infecciones microbianas. En particular, persiste la necesidad apremiante de otros antimicrobianos activos que puedan usarse en el tratamiento de infecciones bacterianas tales como aquellas causadas por Staphylococci, Streptococci, Acinetobacter spp., Klebsiella spp., E. coli y Pseudomonas spp. También existe un requisito urgente de mejores terapias para prevenir la formación de biopelículas y para el tratamiento de afecciones asociadas con biopelículas microbianas.

Chen y otros (2003) describen la actividad antibacteriana de péptidos hidrófobos cortos y ricos en básicos. Entre los péptidos, para los cuales se ha mostrado actividad antibacteriana (frente a *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*), se encuentra el péptido LFB-RF (RRFFFFRFRF).

Los presentes inventores identificaron péptidos que, sorprendentemente, mejoraron la actividad antimicrobiana sobre los péptidos antimicrobianos naturales, tales como las defensinas, catelicidinas, etc. Los péptidos tienen propiedades antimicrobianas potentes, mientras que exhiben baja toxicidad in vitro e in vivo en animales y humanos.

5

Declaraciones de la Invención

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos RRRFRFFFRFRRR.

10

El péptido de la invención es útil, entre otros, en el tratamiento o prevención de infecciones microbianas, en particular infecciones bacterianas tales como, pero no limitadas a, aquellas causadas por *Staphylococcus* spp. y *Pseudomonas* spp. Los péptidos de la presente invención también son útiles en la prevención y tratamiento de infecciones por biopelículas causadas por estas y otras bacterias.

15

Según una modalidad, todos los aminoácidos en el péptido son arginina y fenilalanina.

Generalmente, al menos el 55 % de los aminoácidos en el péptido son aminoácidos arginina, adecuadamente al menos el 60 % (por ejemplo, 61 %) de los aminoácidos en el péptido son aminoácidos arginina.

20

Generalmente, al menos el 20 % de los aminoácidos en el péptido son aminoácidos fenilalanina, adecuadamente al menos el 25 %, más adecuadamente al menos el 30 %, típicamente alrededor del 30 al 40 % (por ejemplo el 38 %) de los aminoácidos en el péptido son aminoácidos fenilalanina.

25

Los aminoácidos del péptido de la presente invención pueden ser aminoácidos D o L. Los aminoácidos pueden ser isómeros ópticos de un aminoácido catiónico como se define en la presente descripción, por ejemplo, aminoácidos D- o L. Los aminoácidos pueden ser naturales o sintéticos. La invención también incluye isómeros conocidos (estructurales, estereo-, conformacionales y configuracionales) y análogos estructurales de los aminoácidos anteriores, y aquellos modificados ya sea de forma natural (por ejemplo, una modificación post-traduccional) o químicamente, que incluyen, pero no exclusivamente, la fosforilación, glicosilación, sulfonilación y/o hidroxilación.

30

De acuerdo con una modalidad, el péptido consiste en aminoácidos arginina y fenilalanina.

Como se usa en la presente descripción, el término "hidrófobo" se refiere a un aminoácido que tiene una cadena lateral que no está cargada a pH fisiológico, que no es polar y que generalmente se repele por una solución acuosa.

35

Generalmente, un residuo amino hidrófobo tiene una hidrofobicidad mayor o igual a -1,10 y una carga menor o igual a 0.

Como se usa en la presente descripción, el término "catiónico" se refiere a los aminoácidos que tienen una carga neta que es mayor o igual a 0. Generalmente, el término "catiónico" se refiere a los aminoácidos que tienen una carga neta que es mayor que cero.

40

De acuerdo con una modalidad, el péptido consiste en 13 aminoácidos.

45

El péptido comprende 5 aminoácidos fenilalanina.

Generalmente, el péptido comprende un esqueleto de arginina con sustituciones de fenilalanina en el mismo.

Generalmente, el péptido comprende al menos una porción de 3 aminoácidos arginina contiguos. Generalmente, el péptido comprende al menos una porción de 3 aminoácidos fenilalanina contiguos, adecuadamente el péptido comprende al menos una porción de 3 aminoácidos fenilalanina contiguos.

50

De acuerdo con una modalidad, el péptido comprende más de una porción de fenilalanina; donde cada porción de fenilalanina comprende uno o más aminoácidos fenilalanina. Generalmente, el péptido comprende dos o tres porciones de fenilalanina.

55

De acuerdo con una modalidad el péptido no comprende aminoácidos fenilalanina terminales.

Típicamente, el péptido comprende porciones de aminoácidos arginina en uno o en ambos extremos, adecuadamente porciones de aminoácidos arginina que tienen de 1 a 5 aminoácidos arginina.

60

De acuerdo con una modalidad el péptido no comprende una secuencia (por ejemplo, 2 o más) de aminoácidos fenilalanina en el extremo N terminal.

65

El péptido de la presente invención puede ser simétrico.

5 Preferentemente el péptido es acíclico. El péptido puede ser de cadena lineal, es decir, lineal o ramificado. El término "péptido" como se usa en la presente descripción significa, en términos generales, una pluralidad de residuos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Se usa de manera intercambiable y significa lo mismo que polipéptido y proteína.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, el péptido consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo RRRFRFFFRFRRR

10 De acuerdo con una modalidad, el péptido comprende aminoácidos fenilalanina y arginina.

15 Los péptidos de la invención generalmente son péptidos sintéticos. Los péptidos pueden ser péptidos aislados, péptidos purificados o variantes de los mismos, que pueden sintetizarse in vitro, por ejemplo, por un método de síntesis de péptidos en fase sólida, por síntesis de péptidos catalizada por enzima o con la ayuda de la tecnología del ADN recombinante.

20 Para identificar los péptidos activos que tienen poca o ninguna toxicidad no deseada para las células de mamíferos, pueden obtenerse péptidos individuales, o bibliotecas de péptidos, y los péptidos individuales o los péptidos de esas bibliotecas pueden examinarse en cuanto a actividad antimicrobiana y toxicidad, que incluye, pero no se limita a, actividad antimicótica, antibacteriana, antiviral, antiprotzoaria, y antiparasitaria. Los péptidos de la descripción pueden existir en diferentes formas, tales como ácidos libres, bases libres, ésteres y otros profármacos, sales y tautómeros, por ejemplo, y la descripción incluye todas las formas variantes de los compuestos.

Así, la descripción abarca la sal o profármaco de un péptido o variante de péptido de la invención.

25 En un segundo aspecto, se proporciona un péptido de la invención para usar como un medicamento.

Composición

30 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición que comprende los péptidos como se describieron anteriormente, junto con uno o más portadores, adyuvantes, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Ventajosamente, la composición comprende un péptido de la presente invención.

35 Los agentes de la invención pueden administrarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene una porción básica o ácida mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse al hacer reaccionar las formas ácidas o básicas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiados en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo. La lista de sales adecuadas se encuentra en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ma ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418; ver también Stahl y otros, Eds, "Handbook of Pharmaceutical Salts Properties Selection and Use", Verlag Helvetica Chimica Acta y Wiley-VCH, 2002. La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente descripción para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico razonable, adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos o, según el caso, un animal, sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde con una relación riesgo/beneficio razonable.

50 La invención incluye por lo tanto sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en donde el compuesto original se modifica al hacer sales ácidas o básicas del mismo por ejemplo las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario que se forman, por ejemplo, a partir de ácidos o bases inorgánicos u orgánicos. Los ejemplos de tales sales ácidas de adición incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocioruro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Las sales básicas incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas tales como sales de dicitohexilamina, N-metil-D-glucamina y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina, etcétera. Además, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes tales como haluros de alquilo inferiores, tales como cloruro de metilo, etilo, propilo, y butilo, bromuros y yoduros; sulfatos de dialquilo como dimetilo, dietilo, dibutilo; y sulfatos de diamilo, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de aralquilo como bromuros de bencilo y fenetilo y otros.

65 Las sales de grupos carboxilo de un péptido o una variante de péptido de la invención pueden prepararse de la manera habitual al poner en contacto el péptido con uno o más equivalentes de una base deseada tal como, por ejemplo, una

base de hidróxido metálico, por ejemplo hidróxido de sodio; un carbonato o bicarbonato de metal tal como, por ejemplo, carbonato o bicarbonato de sodio, o una base amina tal como, por ejemplo, trietilamina, trietanolamina y similares.

5 Los derivados de N-acilo de un grupo amino del péptido o variantes peptídicas de la invención pueden prepararse mediante la utilización de un aminoácido N-acilo protegido para la condensación final, o mediante la acilación de un aminoácido protegido o desprotegido. Los derivados de O-acilo pueden prepararse, por ejemplo, por acilación de un hidroxil péptido libre o de una resina peptídica. Cualquiera de las acilaciones puede llevarse a cabo mediante la utilización de reactivos de acilación estándar, tales como haluros de acilo, anhídridos, acil imidazoles y similares.

10 La descripción incluye profármacos para las especies farmacéuticas activas del péptido descrito, por ejemplo, en la cual uno o más grupos funcionales están protegidos o modificados pero pueden convertirse in vivo en un grupo funcional, como en el caso de los ésteres de ácidos carboxílicos convertibles in vivo en ácido libre, o en el caso de las aminas protegidas, al grupo amino libre. El término "profármaco", como se usa en la presente descripción, representa estructuras particulares que se transforman rápidamente in vivo en la estructura original, por ejemplo, por hidrólisis en la sangre. Una discusión a fondo se proporciona en T. Higuchi y V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 de A.C.S. Symposium Series, Edward B. Roche, editor., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987; H. Bundgaard, editor, Design of Prodrugs, Elsevier, 1985; y Judkins, y otros. Synthetic Communications, 26(23), 4351-4367 (1996).

20 Por lo tanto, los profármacos incluyen fármacos que tienen un grupo funcional que se ha transformado en un derivado reversible de los mismos. Típicamente, tales profármacos se transforman en el fármaco activo por hidrólisis. Los profármacos también incluyen compuestos convertibles en el fármaco activo por una reacción oxidativa o reductiva. Como ejemplos pueden mencionarse los siguientes: activación oxidativa, desalquilación N y O, desaminación oxidativa, oxidación N, epoxidación, activación reductiva, reducción azoica, reducción con sulfoxido, reducción con disulfuro, alquilación bio reductiva y reducción con nitro.

También se mencionan como activaciones metabólicas de profármacos la activación de nucleótidos, la activación de la fosforilación y la activación de la descarboxilación.

30 El uso de grupos protectores se describe completamente en "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por JWF McOmie, Plenum Press (1973), y "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª edición, TW Greene y PGM Wutz, Wiley-Interscience (1991).

35 Por lo tanto, se apreciará por los expertos en la técnica que, aunque los derivados protegidos de los péptidos que se describen pueden no poseer actividad farmacológica como tal, pueden administrarse, por ejemplo, por vía parenteral u oral, y posteriormente se metabolizan en el cuerpo para formar compuestos que son farmacológicamente activos. Tales derivados son por lo tanto ejemplos de "profármacos". Todos los profármacos de los compuestos que se describen se incluyen dentro del alcance de la descripción.

40 La composición de la presente invención también incluye uno o más portadores, excipientes, adyuvantes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente descripción para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico razonable, adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos o, según el caso, un animal, sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde con una relación riesgo/beneficio razonable.

45 Cuando los péptidos terapéuticos de la invención se preparan para administración oral, generalmente se combinan con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para formar una formulación farmacéutica, o una forma de dosificación unitaria. Para la administración oral, los péptidos pueden presentarse como un polvo, una formación granular, una solución, una suspensión, una emulsión o en un polímero o resina natural o sintético para la ingestión de los ingredientes activos a partir de una goma de mascar. Los péptidos activos también pueden presentarse como un bolo, electuario o pasta. Los péptidos terapéuticos de la invención administrados por vía oral pueden formularse además para una liberación sostenida, por ejemplo, los péptidos pueden ser recubiertos, microencapsulados, o de otra manera, colocarse dentro de un dispositivo de administración sostenida. Los ingredientes activos totales en tales formulaciones comprenden de 0,1 a 99,9 % en peso de la formulación.

50 Por lo tanto, una o más formas adecuadas de dosificación unitaria que comprenden los péptidos terapéuticos de la invención pueden administrarse por una variedad de vías que incluyen las vías oral, parenteral (que incluye la subcutánea, la intravenosa, la intramuscular y la intraperitoneal), rectal, dérmica, transdérmica, intratorácica, intrapulmonar, mucosal, intraocular e intranasal (respiratoria). Los péptidos terapéuticos también pueden formularse en una formulación de lípidos o para liberación sostenida (por ejemplo, mediante microencapsulación, ver documento núm. WO 94/07529 y la patente de Estados Unidos. núm. 4,962,091). Las formulaciones pueden, donde sea apropiado, presentarse convenientemente en formas de dosificaciones unitarias discretas y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Tales métodos pueden incluir la etapa de mezclar el agente terapéutico con portadores líquidos, matrices sólidas, portadores semisólidos, portadores sólidos finamente divididos o combinaciones de los mismos, y después, si es necesario, introducir o dar forma al producto en el sistema de suministro que se desea.

Las formulaciones farmacéuticas que contienen los péptidos terapéuticos de la invención pueden prepararse por procedimientos conocidos en la técnica mediante el uso de ingredientes bien conocidos y fácilmente disponibles. Por ejemplo, el péptido puede formularse con excipientes, diluyentes, o portadores comunes, y formar comprimidos, cápsulas, soluciones, suspensiones, polvos, aerosoles y similares. Los ejemplos de excipientes, diluyentes, y portadores que son adecuados para tales formulaciones incluyen tampones, así como materiales de relleno y extensores tales como almidón, celulosa, azúcares, manitol y derivados silícicos. Además pueden incluirse agentes aglutinantes, tales como carboximetilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa y otros derivados de celulosa, alginatos, gelatina, y polivinilpirrolidona. Pueden incluirse agentes hidratantes tales como glicerol, agentes desintegrantes tales como carbonato de calcio y bicarbonato de sodio. Pueden incluirse además agentes para retardar la disolución, tales como parafina. Además pueden incluirse aceleradores de la reabsorción tales como los compuestos de amonio cuaternario. Pueden incluirse agentes activos de superficie tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerol. Pueden añadirse portadores adsorbentes tales como caolín y bentonita. Pueden incluirse además lubricantes tales como talco, calcio, estearato de magnesio, y polietilenglicoles sólidos. También pueden añadirse conservantes. Las composiciones de la invención pueden contener además agentes espesantes tales como celulosa y/o derivados de la celulosa. Además pueden contener gomas tales como goma de xantano, goma guar o carbo o goma arábica, o alternativamente polietilenglicoles, bentonas y montmorillonitas, y similares.

Por ejemplo, los comprimidos o pastillas que contienen los péptidos de la invención pueden incluir agentes tampón tales como carbonato de calcio, óxido de magnesio y carbonato de magnesio. Los agentes tampón adecuados pueden incluir además ácido acético en una sal, ácido cítrico en una sal, ácido bórico en una sal y ácido fosfórico en una sal. Las pastillas y los comprimidos pueden incluir además ingredientes inactivos tales como celulosa, almidón pregelatinizado, dióxido de silicio, hidroxipropil metil celulosa, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, almidón, talco, dióxido de titanio, ácido benzoico, ácido cítrico, almidón de maíz, aceite mineral, polipropilenglicol, fosfato de sodio, estearato de zinc, y similares. Las cápsulas de gelatina duras o blandas que contienen al menos un péptido de la invención pueden contener ingredientes inactivos tales como gelatina, celulosa microcristalina, laurilsulfato de sodio, almidón, talco, y dióxido de titanio, y similares, así como también portadores líquidos tales como polietilenglicoles (PEG) y aceite vegetal. Además, las pastillas o comprimidos con cubierta entérica que contienen uno o más péptidos de la invención están diseñados para resistir la desintegración en el estómago y disolverse en el medio más neutro o alcalino del duodeno.

Los péptidos terapéuticos de la invención pueden formularse además como elixires o soluciones para una administración oral conveniente o como soluciones apropiadas para administración parenteral, por ejemplo por las vías intramuscular, subcutánea, intraperitoneal o intravenosa. Las formulaciones farmacéuticas de los péptidos terapéuticos de la invención además pueden tomar la forma de una solución o dispersión acuosa o anhidra, o alternativamente la forma de una emulsión o suspensión o bálsamo.

Por lo tanto, los péptidos terapéuticos pueden formularse para administración parenteral (por ejemplo, por inyección, por ejemplo, inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas precargadas, recipientes de infusión de pequeño volumen o en contenedores de múltiples dosis. Como se indicó anteriormente, pueden agregarse conservantes para ayudar a mantener la vida útil de la forma de dosificación. Los péptidos activos y otros ingredientes pueden formar suspensiones, soluciones, o emulsiones en portadores oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes para suspensión, estabilización y/o dispersión. Alternativamente, los péptidos activos y otros ingredientes pueden estar en forma de polvo, que se obtiene por aislamiento aséptico de un sólido estéril o por liofilización a partir de la solución para la constitución con un portador adecuado, por ejemplo, agua estéril, libre de pirógenos, antes de su uso.

Es posible agregar, si es necesario, un adyuvante que se elige entre antioxidantes, surfactantes, otros conservantes, formadores de película, agentes queratolíticos o comedolíticos, perfumes, saborizantes y colorantes. Pueden agregarse antioxidantes tales como t-butilhidroquinona, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado y α -tocoferol y sus derivados.

Estas formulaciones pueden contener portadores, vehículos y adyuvantes farmacéuticamente aceptables, que son bien conocidos en la técnica. Es posible, por ejemplo, preparar soluciones mediante el uso de uno o más solvente(s) orgánico(s) que es/son aceptable(s) desde el punto de vista fisiológico, que se eligen, además del agua, a partir de solventes tales como acetona, ácido acético, etanol, alcohol isopropílico, dimetilsulfóxido, éteres de glicol tales como los productos que se venden bajo la denominación "Dowanol", poliglicoles y polietilenglicoles, C1-C4 ésteres de alquilo de ácidos de cadena corta, lactato de etilo o isopropilo, triglicéridos de ácidos grasos tales como los productos que se comercializan bajo la denominación de "Miglyol", miristato de isopropilo, aceite animal, aceite mineral y aceite vegetal y polisiloxanos.

Preferentemente, la composición tiene forma de una formulación farmacéutica de los péptidos terapéuticos de la invención también puede tomar la forma de un disolvente o diluyente que comprende el péptido. Los disolventes o diluyentes pueden incluir soluciones ácidas, dimetilsulfona, N-(2-mercaptopropionil) glicina, 2-n-nonil-1,3-dioxolano y alcohol etílico. Preferentemente el disolvente/diluyente es un disolvente ácido, por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido bórico, ácido láctico, ácido propiónico, ácido fosfórico, ácido benzoico, ácido butírico, ácido málico, ácido malónico, ácido oxálico, ácido succínico o ácido tartárico.

- 5 Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir, como ingredientes opcionales, portadores, diluyentes, agentes solubilizantes o emulsionantes farmacéuticamente aceptables y sales del tipo que están disponibles en la técnica. Los ejemplos de tales sustancias incluyen soluciones salinas normales tales como soluciones salinas tamponadas fisiológicamente y agua. Los ejemplos específicos no limitantes de los portadores y/o diluyentes que son útiles en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen agua y soluciones salinas tamponadas aceptables fisiológicamente tales como soluciones salinas tamponadas con fosfato a pH 7,0-8,0.
- 10 Con mayor preferencia, el disolvente es una solución de ácido acético. El disolvente, por ejemplo, solución de ácido acético, puede estar presente en la composición a una concentración de menos de 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,1 %, 0,05 % o 0,01 % de ácido, por ejemplo ácido acético.
- 15 La composición de la presente invención puede comprender uno o más agentes antimicrobianos adicionales. En particular, la composición de la presente invención puede comprender uno o más agentes antibacterianos adicionales.
- 20 También se contemplan productos de combinación que incluyen uno o más péptidos de la presente invención y uno o más agentes antimicrobianos, en particular uno o más agentes antibacterianos. La composición de la presente invención puede comprender una o más de cisteamina (NM001) y polilisina, tal como hidrobromuro de poli-L-lisina de 10 a 20 kDa (NP108), hidrocloreuro de poli-L-lisina de 15 a 30 kDa (NP101) e hidrocloreuro de poli-L-arginina de 5 a 15 kDa (NP121).
- 25 Adicionalmente, los péptidos son muy apropiados para formularse como formas de dosificación de liberación sostenida y similares. Las formulaciones pueden estar constituidas de manera que liberen el péptido activo, por ejemplo, en una parte determinada del tracto intestinal o respiratorio, posiblemente durante un periodo de tiempo. Los recubrimientos, envolturas, y matrices protectoras pueden prepararse, por ejemplo, a partir de sustancias poliméricas, tales como glicolatos de polilactida, liposomas, microemulsiones, micropartículas, nanopartículas, o ceras. Estos recubrimientos, envolturas, y matrices protectoras son útiles para recubrir dispositivos permanentes, por ejemplo, stents, catéteres, tubos de diálisis peritoneal, dispositivos de drenaje y similares.
- 30 Para la administración tópica, los agentes activos pueden formularse como se conoce en la técnica para la aplicación directa a un área diana. Las formas acondicionadas mayormente para la aplicación tópica toman la forma, por ejemplo, de cremas, leches, geles, polvos, dispersión o microemulsiones, lociones con mayor o menor grado de espesor, almohadillas impregnadas, pomadas o palitos, formulaciones de aerosol (por ejemplo atomizadores o espumas), jabones, detergentes, lociones o pastillas de jabón. Otras formas convencionales para este propósito incluyen apósitos para heridas, vendas recubiertas u otros revestimientos de polímeros, pomadas, cremas, lociones, pastas, jaleas, atomizadores, y aerosoles. Por lo tanto, los péptidos terapéuticos de la invención pueden suministrarse a través de parches o vendajes para la administración dérmica. Alternativamente, el péptido puede formularse para ser parte de un polímero adhesivo, tal como poliacrilato o copolímero de acrilato/acetato de vinilo. Para aplicaciones a largo plazo podría ser conveniente utilizar un material laminado de soporte microporoso y/o transpirable, de manera que pueden minimizarse la hidratación o ablandamiento de la piel. La capa de soporte puede ser de cualquier grosor apropiado que proporcione la protección deseada y las funciones de sostén. Un grosor adecuado generalmente será de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 micras.
- 35 Las formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden comprender, por ejemplo, una solución salina tamponada aceptable fisiológicamente que contiene entre aproximadamente 0,001 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, por ejemplo entre 0,1 mg/ml y 10 mg/ml, de uno o más de los péptidos de la presente invención específicos para la indicación o enfermedad a tratar.
- 40 Las pomadas y cremas pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones pueden formularse con una base acuosa u oleosa y contendrán generalmente además uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, o agentes colorantes. Los péptidos activos también pueden administrarse mediante iontoforesis, por ejemplo, como se describe en las Patentes de Estados Unidos núms. 4,140,122; 4,383,529; o 4,051,842. El porcentaje en peso de un agente terapéutico de la invención presente en una formulación tópica dependerá de varios factores, pero generalmente será de 0,01 % a 95 % del total del peso de la formulación, y típicamente 0,1-85 % en peso.
- 45 Las gotas, tales como gotas oculares o gotas nasales, pueden formularse con uno o más de los péptidos terapéuticos en una base acuosa o no acuosa que además comprende uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes o agentes de suspensión. Los atomizadores líquidos pueden bombearse, o suministrarse convenientemente a partir de envases presurizados. Las gotas pueden suministrarse en un frasco simple con tapón cuentagotas, en una botella plástica adaptada para suministrar contenidos líquidos por goteo, o a través de un cierre diseñado especialmente.
- 50 El péptido terapéutico puede además formularse para la administración tópica en la boca o la garganta. Por ejemplo, los ingredientes activos pueden formularse como una gragea que además comprende una base saborizante, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden la composición en una base inerte tal como gelatina y glicerina
- 55
- 60
- 65

o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que comprenden la composición de la presente invención en un portador líquido adecuado.

5 Los péptidos de la invención pueden administrarse además al tracto respiratorio. Por lo tanto, la presente invención proporciona además formulaciones farmacéuticas en aerosol y formas de dosificación para usar en los métodos de la invención. Generalmente, tales formas de dosificación comprenden una cantidad de al menos uno de los agentes de la invención eficaces para tratar o prevenir los síntomas clínicos de una infección, indicación o enfermedad específica. Cualquier atenuación estadísticamente significativa de uno o más síntomas de una infección, indicación o enfermedad que ha sido tratada de acuerdo con el método de la presente invención se considera como un tratamiento de tal infección, indicación o enfermedad dentro del alcance de la invención.

10 Alternativamente, para la administración por inhalación o insuflación, la composición puede tomar la forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla de polvo del agente terapéutico y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón. La composición del polvo puede presentarse en forma de dosificación unitaria en, por ejemplo, cápsulas o cartuchos, o, por ejemplo, gelatina o envases tipo blister desde los cuales puede administrarse el polvo con la ayuda de un inhalador, insuflador o un inhalador de dosis medida (ver, por ejemplo, el inhalador de dosis medida presurizado (MDI) y el inhalador de polvo seco descritos en Newinan, SP en Aerosols and the Lung, Clarke, SW y Davia, D. eds., pp. 197-224, Butterworths, Londres, Inglaterra, 1984).

15 Los péptidos terapéuticos de la presente invención además pueden administrarse en una solución acuosa cuando se administran en forma inhalada o de aerosol. Por lo tanto, otras formulaciones farmacéuticas de aerosol pueden comprender, por ejemplo, una solución salina tamponada aceptable fisiológicamente que contiene entre aproximadamente 0,001 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml de uno o más de los péptidos de la presente invención específico para la indicación o enfermedad a tratar. Los aerosoles secos en forma de partículas de péptido sólido finamente dividido o de partículas de ácido nucleico que no se disuelven o suspenden en un líquido también son útiles en la práctica de la presente invención. Los péptidos de la presente invención pueden formularse como polvos para espolvorear y comprenden partículas finamente divididas que tienen un tamaño de partícula promedio entre aproximadamente 1 y 5 μm , alternativamente entre 2 y 3 μm . Las partículas finamente divididas pueden prepararse por pulverización y filtración por cribado mediante el uso de técnicas bien conocidas en la técnica. Las partículas pueden administrarse por inhalación de una cantidad predeterminada del material finamente dividido, que puede estar en forma de un polvo. Se apreciará que el contenido unitario del ingrediente activo o de los ingredientes contenidos en una dosis de aerosol individual de cada forma de dosificación no necesariamente constituye una cantidad efectiva para tratar la infección, indicación o enfermedad en particular, ya que la cantidad efectiva necesaria puede alcanzarse mediante administración de una pluralidad de unidades de dosificación. Además, la cantidad efectiva puede lograrse mediante el uso de menos de la dosis en la forma de dosificación, ya sea individualmente o en una serie de administraciones.

20 Para la administración por inhalación al tracto respiratorio superior (nasal) o inferior, los péptidos terapéuticos de la invención se suministran convenientemente a partir de un nebulizador o un envase presurizado u otro medio conveniente para suministrar un aerosol de atomizador. Los envases presurizados pueden comprender un propulsor adecuado tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse mediante una válvula para suministrar una cantidad medida. Los nebulizadores incluyen, pero no se limitan, a los descritos en las patentes de EE.UU. núms. 4,624,251; 3,703,173; 3,561,444; y 4,635,627. Los sistemas de suministro de aerosol del tipo que se describe en la presente descripción están disponibles en numerosas fuentes comerciales, que incluyen Fisons Corporation (Bedford, Mass.), Schering Corp. (Kenilworth, NJ) y American Pharmoseal Co. (Valencia, CA). Para la administración intranasal, el agente terapéutico también puede administrarse a través de gotas nasales, un atomizado líquido, tal como a través de un atomizador de botella plástica o un inhalador de dosis medida. Los atomizadores típicos son el Mistometer (Wintrop) y el Medihaler (Riker).

25 Además, los ingredientes activos también pueden usarse en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo, analgésicos, agentes antiinflamatorios, antihistamínicos, broncodilatadores y similares, ya sea para las afecciones descritas o para alguna otra afección.

30 En una modalidad, la composición comprende además cisteamina y/o polilisina.

35 En un aspecto adicional, se proporciona una composición de acuerdo con la invención para usar como un medicamento.

Uso antimicrobiano

40 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente descripción, se proporciona un péptido como se describió anteriormente para usar en terapia o profilaxis.

45 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente descripción, se proporciona un péptido como se describió anteriormente para usar en el tratamiento o prevención de una infección o afección microbiana. Generalmente, el péptido de la presente invención se empaqueta y presenta para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección o afección microbiana.

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente descripción, se proporciona un método de tratamiento o prevención de una infección o afección microbiana que comprende la etapa de administrar un péptido de la presente invención a un paciente que lo necesite.

10 Los péptidos de la invención son útiles, entre otros, como péptidos antimicrobianos, por ejemplo, contra bacterias, hongos, levaduras, parásitos, protozoos y virus. El término "péptido antimicrobiano" puede usarse en la presente descripción para definir cualquier péptido que tenga actividad microbicida y/o microbistática y abarca, no exclusivamente, cualquier péptido descrito que tenga propiedades como antibacteriano, antifúngico, antimicótico, antiparasitario antiprotozoario, antiviral, antiinfeccioso, antiinfectivo y/o germicida, algicida, amebicida, microbicida, bactericida, fungicida, parasiticida, protozoacida, protozoicida.

15 Por "infección microbiana" se entiende una infección causada por un patógeno bacteriano, parasitario, protozoario, viral o fúngico. Un "patógeno" se define generalmente como cualquier organismo causante de enfermedad. En particular, los péptidos de la presente invención son útiles como péptidos antibacterianos.

20 Por lo tanto, la invención proporciona además un péptido de acuerdo con la invención para usar como un medicamento. Los péptidos de la invención pueden tener aplicación como agentes antimicrobianos tanto in vivo, in vitro como ex vivo.

25 Un patógeno bacteriano puede derivarse de una especie bacteriana seleccionada del grupo que consiste en: *Staphylococcus* spp., por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*; *Enterococcus* spp., por ejemplo, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*; *Streptococcus pyogenes*; *Listeria* spp.; *Pseudomonas* spp. por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa*; *Mycobacterium* spp., por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*; *Enterobacter* spp.; *Klebsiella* spp., por ejemplo, *Klebsiella pneumoniae*; *Campylobacter* spp.; *Salmonella* spp.; *Streptococcus* spp., por ejemplo, *Streptococcus* Grupo A o B, *Streptococcus pneumoniae*; *Stenotrophomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*; *Helicobacter* spp., por ejemplo, *Helicobacter pylori*; *Neisseria* spp., por ejemplo *Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*; *Borrelia burgdorferi*; *Shigella* spp., por ejemplo, *Shigella flexneri*; *Escherichia coli*; *Haemophilus* spp., por ejemplo, *Haemophilus influenzae*; *Chlamydia* spp., por ejemplo, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*; *Francisella tularensis*; *Bacillus* spp., por ejemplo, *Bacillus anthracis*; *Clostridia* spp., Por ejemplo, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*; *Yersinia* spp., por ejemplo, *Yersinia pestis*; *Treponema* spp.; *Burkholderia* spp.; por ejemplo, *Burkholderia mallei*, *B. cepacia*, *B. cepacia* complex y *B. pseudomallei*, *Acinetobacter* spp. por ejemplo, *A. baumannii* y *A. calcoaceticus*; *Achromobacter* spp., *Achromobacter xylosoxidans*.

35 El patógeno bacteriano puede ser una bacteria Gram-negativa o una bacteria Gram-positiva. La bacteria Gram-negativa puede seleccionarse del grupo que consiste en *Pseudomonas* spp. (en particular *Pseudomonas aeruginosa*); *Burkholderia* spp (en particular *Burkholderia cepacia*); *Acinetobacter* spp. por ejemplo, *A. baumannii* y *A. calcoaceticus*; *Streptococcus* spp., por ejemplo, *Streptococcus* Grupo A o B, *Streptococcus pneumoniae*; *Stenotrophomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter* spp., por ejemplo, *Achromobacter xylosoxidans*.

40 La bacteria Gram-positiva puede seleccionarse del grupo que consiste en *Staphylococcus* spp. (en particular, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*); *Escherichia coli*; *Clostridia* spp., Por ejemplo, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*; y *Enterococcus* spp., por ejemplo, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*.

45 El patógeno bacteriano puede seleccionarse del grupo que consiste en *Staphylococcus* spp. (en particular, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*); *Pseudomonas* spp. (en particular *Pseudomonas aeruginosa*); *Burkholderia* spp (en particular *Burkholderia cepacia*), *Escherichia coli*; *Acinetobacter* spp. por ejemplo, *A. baumannii* y *A. calcoaceticus*; *Clostridia* spp., por ejemplo, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*; *Enterococcus* spp., por ejemplo, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*; *Streptococcus* spp., por ejemplo, *Streptococcus* Grupo A o B, *Streptococcus pneumoniae*; *Stenotrophomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* y *Achromobacter* spp., *Achromobacter xylosoxidans*.

55 El patógeno bacteriano puede seleccionarse del grupo que consiste en *Staphylococcus* spp. (en particular, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*) y *Pseudomonas* spp. (en particular *Pseudomonas aeruginosa*).

60 La enfermedad o afección/infección microbiana puede seleccionarse del grupo que consiste en purulencias, forúnculos, celulitis, impétigo, infecciones nosocomiales, bacteriemia, neumonía, osteomielitis, endocarditis, meningitis, abscesos, fibrosis quística (en particular, infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis quística), infecciones gastrointestinales, infecciones genitourinarias, septicemia, faringitis, fascitis necrotizante, glomerulonefritis aguda, otitis media, heridas, ántrax, encefalitis, difteria, gangrena gaseosa, botulismo y tétanos.

65 Alternativamente, los péptidos de la presente descripción pueden usarse para tratar o aliviar una enfermedad o afección que se selecciona del grupo que consiste en gonorrea, meningitis, neumonía, otitis media, osteomielitis, fibrosis quística (en particular infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis quística), infecciones genitourinarias, peritonitis, conjuntivitis, septicemia, enfermedad venérea, bacteriemia, infecciones nosocomiales, disentería, infecciones

gastrointestinales, fiebre tifoidea, plaga neumónica, heridas, cólera, infecciones renales, meliodiosis, conjuntivitis, pertusis, tularemia, brucelosis, enfermedad del legionario, enfermedad de úlcera péptica, tifus, faringitis.

5 La enfermedad o afección a tratar puede ser contribuida o causada por una infección bacteriana oportunista, que incluye enfermedades o afecciones que se seleccionan del grupo que consiste en infecciones del tracto urinario, infecciones del tracto respiratorio, dermatitis, infecciones de tejidos blandos, bacteriemia, infecciones de los huesos y articulaciones, infecciones gastrointestinales e infecciones bacterianas sistémicas en pacientes con quemaduras graves, cáncer, fibrosis quística o SIDA.

10 Los péptidos de la presente descripción pueden tener una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 32 µg/ml o menos contra patógenos microbianos Gram positivos, en particular patógenos bacterianos. Generalmente, los péptidos tienen una CIM de 20 µg/ml o menos, típicamente 16 µg/ml o menos, adecuadamente 10 µg/ml o menos contra patógenos microbianos Gram positivos. Ventajosamente, los péptidos de la presente descripción tienen una CIM de aproximadamente 8 µg/ml contra a patógenos microbianos Gram positivos, en particular patógenos bacterianos Gram positivos.

15 Los péptidos de la presente descripción pueden tener una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 70 µg/ml o menos contra patógenos microbianos Gram negativos, en particular patógenos bacterianos. Generalmente los péptidos tienen una CIM de 50 µg/ml o menos, típicamente 40 µg/ml o menos, adecuadamente 30 µg/ml o menos contra patógenos microbianos Gram negativos. Ventajosamente, los péptidos de la presente descripción tienen una CIM inferior a 30 µg/ml contra a patógenos microbianos Gram negativos, en particular patógenos bacterianos Gram negativos.

La CIM se mide generalmente a un pH de alrededor de 7.

25 Los péptidos de la presente descripción pueden tener una concentración bactericida mínima (CBM) de 250 µg/ml o menos contra patógenos bacterianos Gram negativos y Gram positivos. Generalmente los péptidos tienen una CIM de 125 µg/ml o menos, típicamente 100 µg/ml o menos, adecuadamente 60 µg/ml o menos contra patógenos bacterianos Gram negativos y Gram positivos. Ventajosamente, los péptidos de la presente descripción tienen una CIM inferior a 40 µg/ml contra patógenos bacterianos Gram negativos y Gram positivos.

30 Un patógeno viral puede derivarse de un virus que se selecciona del grupo que consiste en: Virus de inmunodeficiencia humana (HIV 1 y 2); Virus de la leucemia de células T humanas (HTLV 1 y 2); virus del ébola; virus del papiloma humano (por ejemplo, HPV-2, HPV-5, HPV-8, HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33, HPV-52, HPV-54 y HPV-56); papovavirus; rinovirus; poliovirus; herpesvirus; adenovirus; virus de Epstein Barr; virus de la influenza, virus de la hepatitis B y C, virus de la viruela, rotavirus o coronavirus SARS.

35 Un patógeno parasitario puede derivarse de un patógeno parásito que se selecciona del grupo que consiste en Trypanosoma spp. (Trypanosoma cruzi, Trypanosoma brucei), Leishmania spp., Giardia spp., Trichomonas spp., Entamoeba spp., Naegleria spp., Acanthamoeba spp., Schistosoma spp., Plasmodium spp., Cryptosporidium spp., Isospora spp., Balantidium spp., Loa Loa, Ascaris lumbricoides, Dirofilaria immitis, Toxoplasma spp., por ejemplo, Toxoplasma gondii.

45 Un patógeno fúngico puede derivarse de un patógeno fúngico que es del género *Candida* spp. (por ejemplo, *C. albicans*), *Epidermophyton* spp., *Exophiala* spp., *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp., (por ejemplo, *T. rubrum* y *T. interdigitale*), *Tinea* spp., *Aspergillus* spp., *Blastomyces* spp., *Blastoschizomyces* spp., *Coccidioides* spp., *Cryptococcus* spp., *Histoplasma* spp., *Paracoccidiomyces* spp., *Sporothrix* spp., *Absidia* spp., *Cladophialophora* spp., *Fonsecaea* spp., *Phialophora* spp., *Lacazia* spp., *Arthrographis* spp., *Acremonium* spp., *Actinomyces* spp., *Apophysomyces* spp., *Emmonsia* spp., *Basidiobolus* spp., *Beauveria* spp., *Chrysosporium* spp., *Conidiobolus* spp., *Cunninghamella* spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Graphium* spp., *Leptosphaeria* spp., *Malassezia* spp., *Mucor* spp., *Neotestudina* spp., *Nocardia* spp., *Nocardiosis* spp., *Paecilomyces* spp., *Phoma* spp., *Piedraia* spp., *Pneumocystis* spp., *Pseudallescheria* spp., *Pyrenochaeta* spp., *Rhizomucor* spp., *Rhizopus* spp., *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces* spp., *Scedosporium* spp., *Scopulariopsis* spp., *Sporobolomyces* spp., *Syncephalastrum* spp., *Trichoderma* spp., *Trichosporon* spp., *Ulocladium* spp., *Ustilago* spp., *Verticillium* spp., *Wangiella* spp.

55 La infección microbiana fúngica puede ser una infección sistémica, tópica, subcutánea, cutánea o mucosal.

60 Las infecciones fúngicas pueden clasificarse como sistémicas, lo que significa que la infección es profunda y afecta a los órganos internos o es hematógena o es tópica (dermatofítica), lo que significa que la infección es superficial y ocurre en la piel. Adicionalmente, las infecciones por levaduras pueden afectar las membranas mucosas del cuerpo. Las infecciones por levaduras también pueden ser sistémicas (por ejemplo, Candidaemia y otras afecciones con frecuencia fatales). Las infecciones fúngicas en la piel generalmente se tratan con cremas o pomadas (fármacos antimicóticos tópicos). Sin embargo, las infecciones sistémicas, las infecciones por levaduras o las infecciones tópicas que no desaparecen después del tratamiento con cremas o pomadas pueden necesitar un tratamiento con fármacos antifúngicos sistémicos (orales o IV). Estos fármacos se usan, por ejemplo, para tratar infecciones fúngicas comunes, como la dermatofitosis (tiña), que se presenta en la piel o la candidiasis (una infección por levaduras, también conocida como afta), que puede ocurrir en la garganta, en la vagina, o en otras partes del cuerpo. Los fármacos antifúngicos sistémicos también se usan para tratar

otras infecciones fúngicas profundas, como la histoplasmosis, la blastomicosis y la aspergilosis, que pueden afectar los pulmones y otros órganos. Algunas veces se usan para prevenir o tratar infecciones fúngicas en personas cuyo sistema inmunitario está debilitado, tales como los pacientes con trasplante de órganos o de médula ósea y personas con VIH-SIDA.

5

Las infecciones fúngicas tópicas o dermatófitas, aunque típicamente no suelen ser causantes de muerte o de una enfermedad grave, son prevalentes y son económicamente importantes porque pueden ser costosas de tratar. Las infecciones fúngicas tópicas o superficiales pueden incluir las de la piel, lámina, estrato córneo, uñas y cabello. Las infecciones cutáneas son infecciones de la piel, uñas de las manos y uñas de los pies.

10

En un aspecto que se prefiere de la descripción, la infección fúngica es onicomycosis. La onicomycosis puede deberse a un hongo de, pero no limitado a, el género *Trichophyton* spp. por ejemplo, el hongo puede ser *Trichophyton interdigital* o *Trichophyton rubrum*.

15

El término "onicomycosis" incluye, pero no se limita a, los tipos de onicomycosis subungueal distal lateral, blanca superficial, subungueal blanca proximal, distrófica secundaria, distrófica primaria, endonix, por cándida (por ejemplo, onicolisis y enfermedad mucocutánea crónica). La onicomycosis se ha demostrado como un factor de riesgo significativo para complicaciones clínicas más graves, tales como la celulitis bacteriana aguda del brazo/pierna y otras infecciones bacterianas secundarias, por lo que la presente descripción abarca el tratamiento de estas infecciones.

20

El término "tratamiento" se refiere a los efectos de los péptidos que se describen en la presente descripción que confieren un beneficio a los pacientes afligidos con una enfermedad (infecciosa), que incluye una mejora en la afección del paciente o un retraso en la progresión de la enfermedad.

25

Los péptidos de la descripción, con la inclusión de sus sales, se administran para lograr una reducción en al menos un síntoma asociado con una infección, indicación o enfermedad, o una disminución en la cantidad de anticuerpo asociado con la indicación o enfermedad.

30

Los péptidos de la descripción pueden ser útiles además en el tratamiento o la prevención de, entre otras, heridas, úlceras y lesiones, por ejemplo, las heridas cutáneas tales como cortaduras o quemaduras y afecciones asociadas con las mismas.

35

El término "tratamiento" se refiere a los efectos de los péptidos que se describen en la presente descripción que confieren un beneficio a los pacientes afligidos con una enfermedad (infecciosa), que incluye una mejora en la afección del paciente o un retraso en la progresión de la enfermedad.

40

Como se usa en la presente descripción, "tratamiento de una herida" puede incluir la curación de heridas y afecciones asociadas y la terapia que promueve, aumenta o acelera la cicatrización de los tejidos e incluye la cicatrización postoperatoria, quemaduras, psoriasis, aceleración de la remodelación tisular, por ejemplo, después de una cirugía estética y trasplante de órganos.

45

Por lo tanto, en un aspecto adicional de la invención, se proporciona un sustrato al que se aplica o se adhiere un péptido o composición de la invención. Preferentemente, el sustrato es adecuado para aplicación a las heridas o para suministrarlo a los sitios de las heridas. Preferentemente, el sustrato permite la transferencia de los péptidos de la invención desde el sustrato al lecho de la herida para lograr su efecto antibiótico. El sustrato puede ser un apósito, por ejemplo, apósito para heridas. El apósito puede comprender un material de tela o puede ser un material similar a colágeno.

50

En este contexto, los péptidos de la invención también pueden encontrar aplicación como un desinfectante, el péptido o las composiciones farmacéuticas de la invención pueden aplicarse solas o en combinación con otros agentes desinfectantes, a una superficie a tratar. Como se usa en la presente descripción una "superficie a tratar" puede ser un sustrato como se define en la presente descripción o un dispositivo médico. En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para tratar o prevenir una infección microbiana en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido de acuerdo con la invención.

55

Los mamíferos, las aves y otros animales pueden tratarse con los péptidos, las composiciones o los métodos que se describen en la presente descripción. Tales mamíferos y aves incluyen humanos, perros, gatos y ganado, tales como caballos, ganado vacuno, ovejas, cabras, pollos y pavos y similares. Además, las plantas también pueden tratarse con los péptidos, composiciones o métodos de la invención.

60

Cuando el sujeto es un animal, los péptidos de la invención pueden administrarse por vía tópica o sistémica. En particular, los péptidos pueden aplicarse a la carne del animal o a características similares a las uñas, que incluyen, pero no son exclusivas de, pezuñas, garras y trotones.

65

Los péptidos de la presente invención son generalmente no tóxicos y generalmente son bien tolerados por mamíferos, aves, animales y plantas. Típicamente, los péptidos de la presente invención se toleran bien en dosis de 2 a 10 mg/kg o

más, adecuadamente de 2 a 6 mg/kg. Por ejemplo, se encontró que el péptido NP432 no es letal para los ratones a una dosis de alrededor de 5 mg/kg.

5 Para lograr el(los) efecto(s) deseado(s), el péptido, una variante del mismo o una combinación de los mismos, puede administrarse como dosificaciones únicas o divididas, por ejemplo, de al menos aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 500 a 750 mg/kg, de al menos aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 300 a 500 mg/kg, al menos aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 a 300 mg/kg o al menos aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 50 a 100 mg/kg del peso corporal o al menos aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal, aunque otras dosificaciones pueden proporcionar resultados beneficiosos. La cantidad que se administra variará en dependencia de diversos factores que incluyen, pero no se limitan a, el péptido elegido y sus efectos clínicos, la enfermedad, el peso, la condición física, la salud, la edad del mamífero, según se desee lograr la prevención o el tratamiento, y si el péptido se modifica químicamente. El clínico puede determinar fácilmente tales factores al examinar los datos empíricos de los ensayos clínicos y al examina los resultados del modelo animal preclínico u otros sistemas de prueba disponibles en la técnica.

15 La administración de los agentes terapéuticos de acuerdo con la presente descripción puede ser en una dosis única, en múltiples dosis, de manera continua o intermitente, en dependencia de, por ejemplo, la condición fisiológica del receptor, si el propósito de la administración es terapéutico o profiláctico y otros factores conocidos por los expertos. La administración de los péptidos de la invención puede ser esencialmente continua durante un periodo de tiempo preseleccionado o puede ser en una serie de dosis espaciadas. Se contemplan tanto la administración local como la sistémica.

25 Para preparar la composición, los péptidos se sintetizan o se obtienen de otra manera, se purifican según se necesite o se desee, y después generalmente se liofilizan y se estabilizan. El péptido puede ajustarse después a la concentración apropiada y opcionalmente se combina con otros agentes. El peso absoluto de un péptido dado incluido en una dosis unitaria puede variar ampliamente. Por ejemplo, pueden administrarse aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2 g o aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg, de al menos un péptido de la invención, o una pluralidad de péptidos específicos para un tipo de célula particular. Alternativamente, la dosificación unitaria puede variar de aproximadamente 0,01 g a aproximadamente 50 g, de aproximadamente 0,01 g a aproximadamente 35 g, de aproximadamente 0,1 g a aproximadamente 25 g, de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 12 g, de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 8 g, de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 4 g, o de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 2 g.

35 Las dosis diarias de los péptidos de la invención también pueden variar. Tales dosis diarias pueden variar, por ejemplo, desde aproximadamente 0,001 g/día hasta aproximadamente 100 o 50 g/día, desde aproximadamente 0,1 g/día hasta aproximadamente 25 g/día, desde aproximadamente 0,1 g/día hasta aproximadamente 12 g/día, desde de aproximadamente 0,1 g/día a aproximadamente 5 g/día, de aproximadamente 0,1 g/día a aproximadamente 2,5 g/día, de aproximadamente 0,1 g/día a aproximadamente 2 g/día, de aproximadamente 0,5 g/día a aproximadamente 8 g/día, de aproximadamente 0,5 g/día hasta aproximadamente 4 g/día, de aproximadamente 0,5 g/día hasta aproximadamente 2 g/día, y de aproximadamente 0,5 g/día hasta aproximadamente 1 g/día.

Efecto sinérgico

45 Preferentemente, la composición incluye uno o más agentes antimicrobianos que actúan sinérgicamente con el péptido de la presente invención. Típicamente, el efecto sinérgico produce un aumento del efecto antimicrobiano. Generalmente, los agentes combinados se asocian a propiedades antimicrobianas al menos un 10 % mayores que las propiedades antimicrobianas aditivas de los dos o más agentes; típicamente, al menos un 20 % mayor; adecuadamente al menos un 30 % mayor; ventajosamente, al menos un 50 % mayor que las propiedades antimicrobianas aditivas de los dos o más agentes.

50 Generalmente, el agente antimicrobiano es un agente antibacteriano y la composición exhibe un efecto antibacteriano sinérgicamente alto.

55 El efecto antibacteriano sinérgicamente elevado puede ser evidente con respecto a y uno de los grupos que consiste en: *Staphylococcus* spp., por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*; *Enterococcus* spp., por ejemplo, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*; *Streptococcus* pyogenes; *Listeria* spp.; *Pseudomonas* spp. por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa*; *Mycobacterium* spp., por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*; *Enterobacter* spp.; *Klebsiella* spp., por ejemplo, *Klebsiella pneumoniae*; *Campylobacter* spp.; *Salmonella* spp.; *Streptococcus* spp., por ejemplo, *Streptococcus* Grupo A o B, *Streptococcus pneumoniae*; *Stenotrophomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*; *Helicobacter* spp., por ejemplo, *Helicobacter pylori*; *Neisseria* spp., por ejemplo *Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*; *Borrelia burgdorferi*; *Shigella* spp., por ejemplo, *Shigella flexneri*; *Escherichia coli*; *Haemophilus* spp., por ejemplo, *Haemophilus influenzae*; *Chlamydia* spp., por ejemplo, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*; *Francisella tularensis*; *Bacillus* spp., por ejemplo, *Bacillus anthracis*; *Clostridia* spp., Por ejemplo, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*; *Yersinia* spp., Por ejemplo, *Yersinia pestis*; *Treponema* spp.; *Burkholderia* spp.; por ejemplo, *Burkholderia mallei*, *B. cepacia*, *B. cepacia complex* y *B. pseudomallei*, *Acinetobacter* spp. por ejemplo, *A. baumannii* y *A. calcoaceticus*; *Achromobacter* spp., *Achromobacter xylosoxidans*.

El efecto sinérgico puede ser particularmente evidente con respecto a las bacterias *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* y *S. aureus*; y contra las biopelículas bacterianas que comprenden tales patógenos bacterianos.

5 Alternativamente, el efecto sinérgico puede ser evidente debido a una toxicidad sorprendentemente baja asociada con los agentes combinados. Generalmente, los agentes combinados se asocian con una toxicidad de al menos un 10 % menos que la toxicidad asociada a los aditivos de los dos o más agentes; típicamente, al menos un 20 % menos; adecuadamente al menos un 30 % menos; ventajosamente, al menos un 50 % menos que la toxicidad asociada a los aditivos de los dos o más agentes.

10 Puede exhibirse un efecto sinérgico a través de una combinación del péptido de la presente invención y uno o más de otros péptidos antibacterianos.

15 De acuerdo con un ejemplo, los péptidos antibacterianos pueden ser de acuerdo con la siguiente fórmula: ((X) I (Y) m) n en donde I y m son números enteros de 1 a 10, por ejemplo 0 a 5; n es un número entero de 1 a 10; X e Y, que pueden ser iguales o diferentes, son un aminoácido que se selecciona del grupo que consiste en aminoácidos hidrófobos y/o aminoácidos catiónicos. En un aspecto que se prefiere de la descripción, el péptido antibacteriano comprende de 3 a 200 aminoácidos, por ejemplo 3, 4, 5, 6 o 7 hasta 100 aminoácidos, con la inclusión de 3, 4, 5, 6 o 7 hasta 20, 25, 30, 35, 40 o 42 aminoácidos. El péptido antibacteriano puede comprender de 100 a 200 aminoácidos, de 27 a 100 aminoácidos, de 20 28 a 86 aminoácidos, de 7 a 27 aminoácidos o de 3 a 14 aminoácidos. Típicamente, el péptido antibacteriano comprende de 3 a 15 aminoácidos (por ejemplo, de 13 a 15), por ejemplo de 3 a 7 aminoácidos. X e Y pueden seleccionarse de fenilalanina y arginina. X puede ser un aminoácido fenilalanina e Y puede ser un aminoácido arginina.

25 De acuerdo con una modalidad, se proporciona una composición sinérgica que incluye un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo RRRFRFFFRFRRR, junto con una o más de cisteamina (NM001), y polilisina, tal como 10 a 20 kDa hidrobromuro de poli-L-lisina (NP108).

30 De acuerdo con un ejemplo, la composición comprende uno de RRRFRFFFRFRRR (NP432), y uno de cisteamina y polilisina, tal como hidrobromuro de poli-L-lisina de 10 a 20 kDa (NP108).

De acuerdo con un ejemplo, la composición comprende RRRFRFFFRFRRR (NP432) y uno de cisteamina y polilisina, tal como hidrobromuro de poli-L-lisina de 10 a 20 kDa (NP108).

35 A través de toda la descripción y las reivindicaciones de esta especificación, las palabras "comprende" y "contiene" y las variaciones de las palabras, por ejemplo "que comprende" y "comprende", significan "que incluyen pero no se limitan a", y no se pretende excluir (y no se excluyen) otras porciones, aditivos, componentes, enteros o etapas.

40 A través de toda la descripción y las reivindicaciones de esta especificación, el singular abarca el plural a menos que el contexto lo requiera de otra manera. En particular, donde se use el artículo indefinido en la especificación, se entiende que contempla la pluralidad así como también la singularidad, a menos que el contexto lo requiera de otra manera.

45 Los rasgos, enteros, características, compuestos, porciones químicas o grupos descritos junto con un aspecto particular, modalidad o ejemplo de la invención se debe entender que son aplicables a cualquier otro aspecto, modalidad o ejemplo descrito en la presente descripción a menos que se incompatible con éste.

La presente invención se describirá ahora a manera de ejemplo solamente con referencia a las figuras adjuntas en las cuales:

50 La Figura 1 proporciona una tabla que detalla la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) de los péptidos de acuerdo con la presente invención contra varias especies de bacterias Gram positivas (Figura 1) y especies de bacterias Gram negativas (Figura 1a, 1b y 1c);

La Figura 2 proporciona una tabla que detalla la concentración inhibitoria mínima promedio (CIM) de los péptidos de acuerdo con la presente invención contra especies microbianas Gram + y Gram -;

La Figura 3 detalla la CIM de NP432, NP432 y NM001 y NP432 y NP108 en concentraciones variables contra la biopelícula de *P. aeruginosa*;

55 La Figura 4 detalla la CIM de NP445, NP445 y NM001 y NP445 y NP108 a concentraciones variables contra la biopelícula de *P. aeruginosa*;

La Figura 5 detalla la CIM de NP432 y NM001 y NP432 y NP108 a concentraciones variables contra la biopelícula de *S. aureus*;

60 La Figura 6 detalla la CIM de NP445, NP445 y NM001 y NP445 y NP108 en concentraciones variables contra la biopelícula de *S. aureus*;

La Figura 7 y la Figura 7a proporcionan una tabla que detalla la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) de los péptidos de acuerdo con la presente invención contra diversas especies microbianas;

La Figura 8 detalla la MBEC de colistina, NP108 y NP432 en concentraciones de 0 a 2500 µg/ml contra la película bacteriana de *P. aeruginosa*;

65 La Figura 9 detalla el MBEC de combinaciones de NP108 - NM001, NP432 - NM001 y NP432 - NP108 contra la biopelícula de *P. aeruginosa* en concentraciones de 0 a 600 µg/ml;

La Figura 10 detalla la MBEC de colistina, NP108 y NP432 en concentraciones de 0 a 2500 µg/ml contra la biopelícula bacteriana de *S. aureus*;

La Figura 11 detalla las MBEC de combinaciones de NP108 - NM001, NP432 - NM001 y NP432 - NP108 contra la biopelícula de *S. aureus* a concentraciones de 0 a 600 µg/ml.

5

EJEMPLOS

Ejemplo 1

10 Las biopelículas bacterianas de *P. aeruginosa* y las biopelículas bacterianas de *S. aureus* se cultivaron en agar Mueller-Hinton en placas separadas de microtitulación de 96 pocillos durante 21 horas a 37 grados Celsius. Las células planctónicas y el medio se eliminaron y las biopelículas bacterianas se lavaron tres veces con una solución tampón de fosfato a un pH de alrededor de 7. Luego, a las biopelículas bacterianas, se les agregaron diluciones dobles de tres
15 agentes antimicrobianos diferentes en el caldo Mueller Hinton. Las placas de microtitulación se incubaron a 37 grados Celsius durante 24 horas. El medio se transfirió luego a una placa de microtitulación nueva y se midió la densidad óptica de la biopelícula bacteriana a 625 nm en un lector de placa de microtitulación (BioTek Powerwave, XS, Winooski, EE. UU.).

20 Los agentes antimicrobianos probados fueron Colistin, NP108 y NP432. En primer lugar, se analizó la actividad de los agentes antimicrobianos a concentraciones de 0 a 2500 µg/ml, luego se analizó la actividad de los agentes antimicrobianos a concentraciones de 0 a 600 µg/ml. Los resultados se resumen en la Figuras 8 a 11. Estas cifras evidencian el efecto antimicrobiano de un péptido de la presente invención (NP432) contra la biopelícula bacteriana de *P. aeruginosa* y contra la biopelícula bacteriana de *S. aureus*. El efecto antimicrobiano es comparable con los agentes antimicrobianos conocidos.

Ejemplo 2

Las biopelículas bacterianas de *P. aeruginosa* y las biopelículas bacterianas de *S. aureus* se cultivaron en agar Mueller-Hinton en placas separadas de microtitulación de 96 pocillos durante 18 horas a 37 grados Celsius. Luego se eliminaron las células planctónicas y el medio y se lavaron las biopelículas bacterianas tres veces con una solución tampón de fosfato a un pH de alrededor de 7. Luego, a las biopelículas bacterianas, se les agregaron diluciones dobles de tres
30 agentes antimicrobianos diferentes en el caldo Mueller Hinton. Las placas de microtitulación se incubaron a 37 grados Celsius durante 24 horas. El medio se transfirió luego a una placa de microtitulación nueva y se midió la densidad óptica de la biopelícula bacteriana a 625 nm en un lector de placa de microtitulación (BioTek Powerwave, XS, Winooski, EE. UU.).

35 Los agentes antimicrobianos que se probaron fueron NP432 solo, una combinación de NP432 y NM001 en igual concentración, una combinación de NP432 y NP108 en igual concentración, NP445 solo, una combinación de NP445 y NM001 en igual concentración, una combinación de NP445 y NP108 en igual concentración. Los agentes antimicrobianos se probaron a concentraciones de 0 a 1 mg/ml contra biopelículas bacterianas de *P. aeruginosa* y biopelículas bacterianas de *S. aureus*. Los resultados se resumen en la Figuras 3 a 6. Estas cifras evidencian el efecto antimicrobiano de un péptido de la presente invención (NP432 y NP445) contra las biopelículas bacterianas de *P. aeruginosa* y contra la biopelícula bacteriana de *S. aureus*, solo y en combinación con NM001 y NP108.

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos RRRFRFFFRFRRR.
- 5 2. El péptido de la reivindicación 1, para usar como un medicamento.
3. Una composición que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz del péptido como se reivindica en la reivindicación 1 y un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende además cisteamina y/o polilisina.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 3 o 4 para usar como un medicamento.
- 15 6. Un sustrato al que se adhiere o aplica un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 o 4.

NP	Secuencia	S. epidermidis ATCC12228			S. aureus ATCC25923			S. aureus DSMZ11729			C. difficile NCTC11209			E. faecium ATCC19434			E. faecalis ATCC29212			S. aureus PLD64 (MRSA)		
		MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50
NP432	RRRRFFFFRRRR	4	4	2	31.25	31.25	<7.8	62.5	62.5	<7.8	<31.25	<31.25	7.8	7.8	7.8	15.6	15.6	7.8	250	125	7.8	
NP438	HHHFFFFRRRR	<7.8	<7.8	<7.8	>500	>500	250	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
NP445	KKFPWRLRLRYGRR	<7.8	31.25	7.8	500	500	125	500	500	125	500	500	125	500	500	125	500	500	125	500	500	
NP465	RRRRFFFFRRRR	<7.8	<7.8	<7.8	31.25	31.25	31.25	125	125	31.25	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP466	RRRFRRFRRRR	<7.8	<7.8	<7.8	15.6	15.6	7.8	125	125	7.8	125	125	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NP487	RRRFRRFRRRR	<7.8	<7.8	<7.8	62.5	62.5	31.25	125	125	31.25	125	125	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	
NP468	RRRRFFFFRRRR	15.6	15.6	7.8	62.5	62.5	15.6	125	125	15.6	125	125	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	
NP469	RRRRFFFFRRRR	15.6	15.6	7.8	500	500	125	500	500	125	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP470	RRRRFFFFRRRR	125	125	15.6	500	500	250	500	500	250	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP471	RRRRFFFFRRRR	62.5	62.5	31.25	500	500	250	>500	>500	250	>500	>500	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP472	RRRRRRFRFR	31.25	31.25	15.6	250	250	125	500	500	125	500	500	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP473	RRRRRRFRFG	125	125	31.25	500	500	250	500	500	250	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP474	RRGRRRRFRFG	125	125	31.25	500	500	125	500	500	125	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP475	RRFRRRRRFG	125	31.25	15.6	500	500	500	500	500	500	500	500	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP476	RRFRRRRRFR	62.5	62.5	15.6	500	500	250	500	500	250	500	500	250	250	250	250	250	250	250	250	250	
NP490	FRRRRRFFFFRRR				31.25	31.25	15.625	62.5	62.5	15.625	62.5	62.5	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NP491	RRRRRRFFFFRRF				125	125	62.5	250	125	62.5	250	125	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	
NP492	FFFFRRRRRRR				62.5	15.625	7.8	125	62.5	7.8	125	62.5	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NP493	RRRRFFFFRRRR				250	31.25	15.625	31.25	31.25	15.625	31.25	31.25	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NP494	FRRRRRFFFFRRF				125	62.5	31.25	125	125	31.25	125	125	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	
NP495	RRRYYYRYRRR				250	250	125	250	250	125	250	250	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	
NP496	RRRAAAAARRR				500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP497	RRRRRRRRFFFF				31.25	15.625	15.625	31.25	31.25	15.625	31.25	31.25	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NP498	RRRRFFFFRRRR				>500	>500	500	>500	>500	500	>500	>500	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP432C	RRRRFFFFRRRR- Cisteamina	15.6	15.6	7.8	62.5	62.5	7.8	62.5	62.5	7.8	62.5	62.5	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NM001	Cisteamina	500	500	250	500	500	500	500	500	500	500	500	1000	1000	1000	1000	1000	1000	512	512	512	

Figura 1

Figura 1a

NP	Secuencia	P. aeruginosa DSMZ1128			P. aeruginosa DBMZ1289			P. aeruginosa ATCC35417			P. aeruginosa 37385A			P. aeruginosa 37385B			P. aeruginosa 37385C			P. aeruginosa 3740D			P. aeruginosa 30011			P. aeruginosa PA14			P. aeruginosa Pad8		
		MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS	MIC	MI	CS
NP432	RRRFFRR FRFR	62.5	46.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.6	15.	15.6	15.	15.6	15.	15.6	
NP438	HHHFFRR FRFR	>50	>50	500	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	500	>50	
NP445	KKFPVRLRL RFGRR	62.5	62.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	
NP465	RRRFFRR FRFR	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP466	RRRFFRR FRFR	500	500	7.8	15.6	15.	15.	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP467	RRRFFRR FRFR	500	500	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	
NP468	RRRFFRR FRFR	500	500	125	62.5	62.	62.	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	
NP469	RRRFFRR RR							250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	
NP470	RRRFFRR RR							500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP471	RRRFFRR RR							500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP472	RRRFFRR RR							500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP473	RRRFFRR RR							500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP474	RRRFFRR RR							500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP475	RRRFFRR RR							500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	
NP476	RRRFFRR RR							125	31.	31.	125	31.	31.	125	31.	31.	125	31.	31.	125	31.	31.	125	31.	31.	125	31.	31.	125	31.	
NP490	RRRFFRR RR	62.5	62.	31.	125	62.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	31.	31.2	31.	
NP491	RRRFFRR RR	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	62.	250	125	
NP492	RRRFFRR RR	500	500	250	250	250	250	500	500	250	250	250	500	500	250	250	500	500	250	250	250	500	500	250	250	500	500	250	250	500	
NP493	RRRFFRR RR	125	125	15.	31.2	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	
NP494	RRRFFRR RR	250	250	125	250	125	62.	>50	250	125	62.	>50	250	125	62.	>50	250	125	62.	>50	250	125	62.	>50	250	125	62.	>50	250	125	
NP495	RRRFFRR RR	>50	500	250	250	250	125	31.	500	500	250	250	500	500	250	250	500	500	250	250	250	500	500	250	250	500	500	250	250	500	
NP496	RRRFFRR RR	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	
NP497	RRRFFRR RR	25	7.8	7.8	31.2	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
NP498	RRRFFRR RR	>50	>50	500	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	
NP432C	RRRFFRR RR	62.5	62.	31.	31.2	31.	31.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.	15.6	15.	15.6	15.	15.6	15.	15.6	15.	
NM001	Cisteamina	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	

Figura 1b

NP	Secuencia	B. cepacia NCTC:10743			B. cepacia NCTC:10744			A. baumannii NCTC:12156			A. calcoaceticus NCTC:7422			E. coli NCTC:9434			E. coli NCTC:1093			E. coli NCTC:9001		
		MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50	MIC100	MIC90	MIC50
NP432	RRRFRFFFRFR	>250	>250	250	>250	>250	>250	31.25	31.25	15.6	31.25	31.25	15.6	31.25	31.25	3.9	15.6	7.8	2	31.25	31.25	15.6
NP438	HHHFRFFFRFR																					
NP445	KKFPWLRLLRYGRR																					
NP465	RRRRRFFFRFR																					
NP466	RRRF-RF-RFRFR																					
NP467	RRRF-RF-RFRFR																					
NP468	RRFRFFFRFR																					
NP469	RRRF-FRFR																					
NP470	RRRF-FRFR																					
NP471	RRRF-FRFR																					
NP472	RRFRFRFR																					
NP473	RRFRFRFR																					
NP474	RRFRFRFR																					
NP475	RRFRFRFR																					
NP476	RRFRFRFR																					
NP490	FRFRFFFRFR																					
NP491	RRFRFFFRFR																					
NP492	FFFRFRFRFR																					
NP493	RRRF-FRFR																					
NP494	FRFRFFFRFR																					
NP495	RRRYYYRYRR																					
NP496	RRRRAAARRR																					
NP497	RRFRFRFRFR																					
NP498	RRRF-FRFR																					
NP432C	RRRF-FRFRFR- Cistamina	>250	>250	125	>250	>250	>250	31.25	31.25	15.6	31.25	31.25	15.6	31.25	31.25	15.6	125	125	7.8	250	250	62.5
MM001	Cistamina	>250	>250	125	>250	>250	125	>250	>250	250	125	>250	250	125	125	15.6	500	250	7.8	250	250	62.5

Figura 2

		MIC (mg/ml) vs Gram +	MIC (mg/ml) vs Gram -
NP432	RRRFRFFFRFRRR	7.8 - 62.5	15.6 - 62.5
NP438	HHHFRFFFRFRRR	>500	>500
NP465	RRRRRFFFRFRRR	7.8 - 125	31.25 - 250
NP466	RRRFRFRFRFRRR	7.8 - 125	15.6 - 500
NP467	RRRFRFPFRFRRR	7.8 - 125	62.5 - 500
NP468	RRFRRFFFRFRFR	15.6 - 125	62.5 - 500
NP469	RRRRFFFRRRR	15.6 - 500	250
NP470	RRRRFRFRRRR	125 - 500	500
NP471	RRRRFPFRRRR	62.5 - >500	500
NP472	RRFRRRFRFRFR	31.25 - 500	500
NP473	RRFRRRFRFRFG	125 - 500	500
NP474	RREGRRFRFRFG	125 - 500	500
NP475	RRFRRRFRFRFG	125 - 500	500
NP476	RRFRRRFRFRFR	62.5 - 500	125
NP432C	RRRFRFFFRFRRR- cisteamina	15.6 - 62.5	15.6 - 125

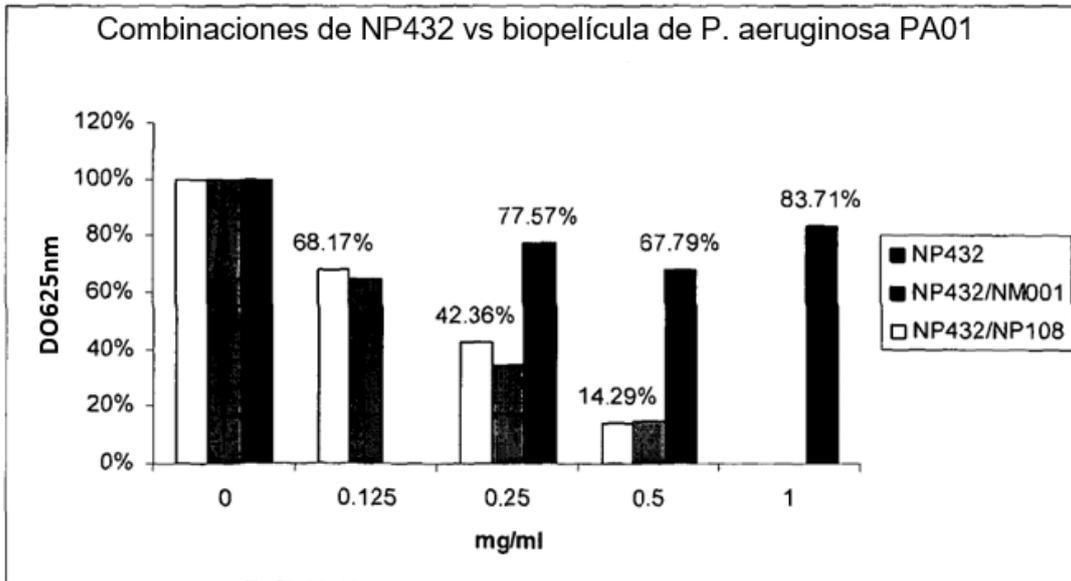


Figura 3. CIM de NP432, NP432 y NM001 y NP432 y NP108 a concentraciones variables contra biopelícula de P. aeruginosa PA01

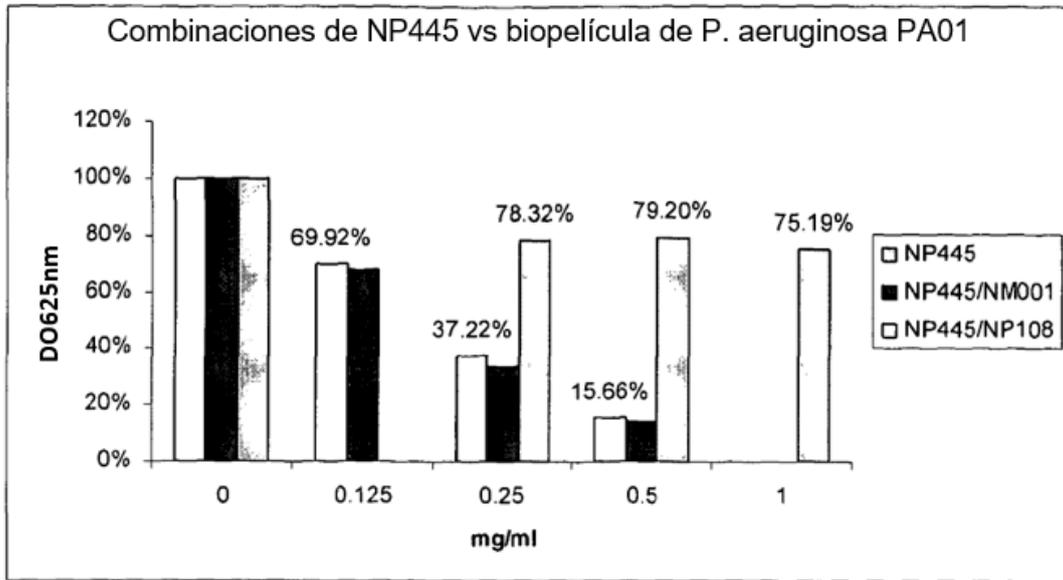


Figura 4. CIM de NP445, NP445 y NM001 y NP445 y NP108 a concentraciones variables contra biopelícula de *P. aeruginosa*

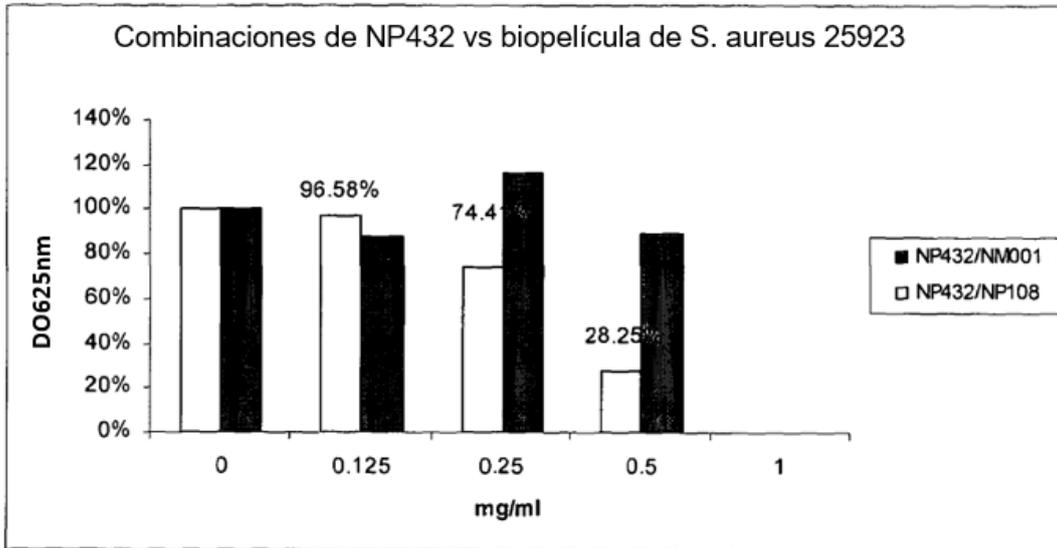


Figura 5

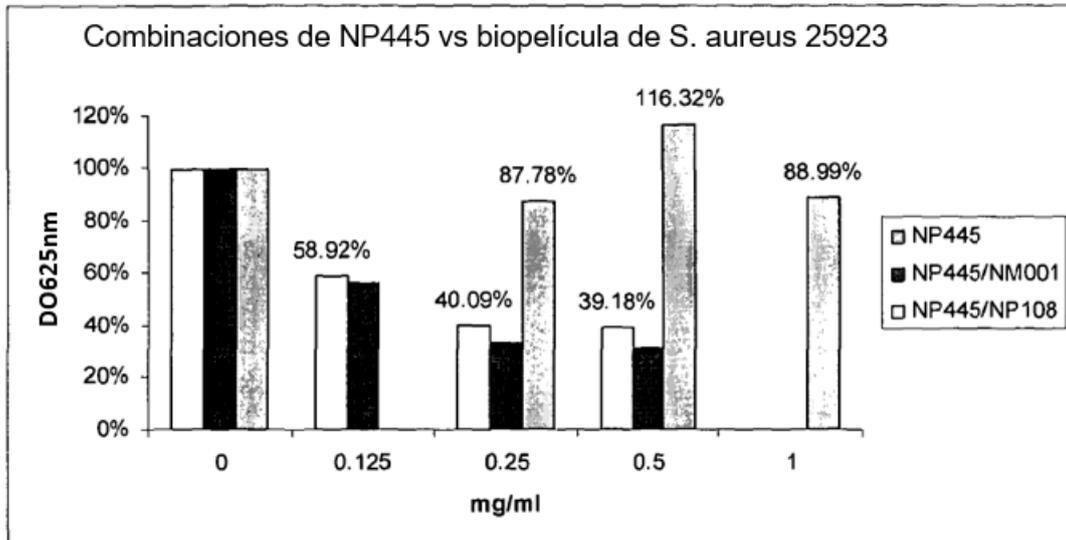


Figura 6. CIM de NP445, NP445 y NM001 y NP445 y NP108 a concentraciones variables contra biopelícula de *P. aeruginosa*

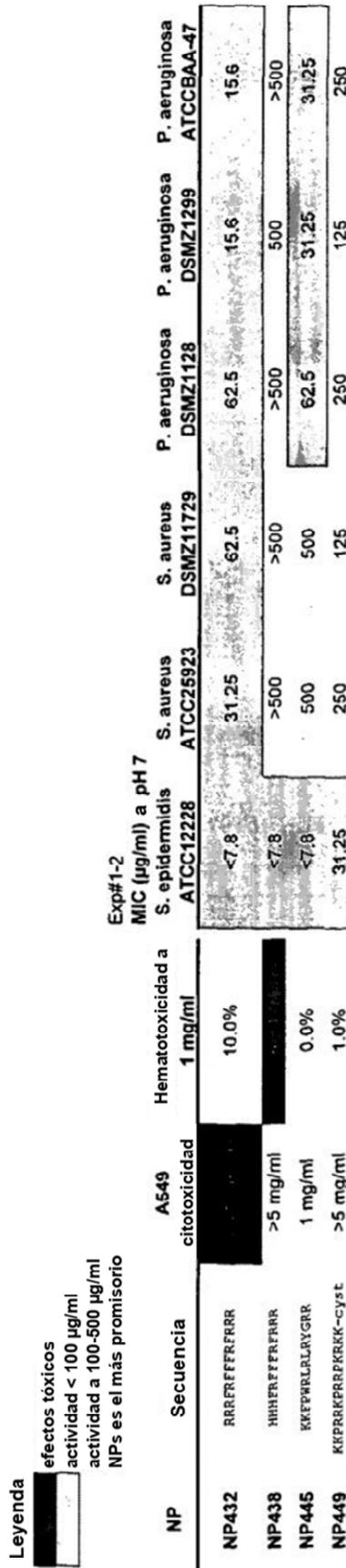


Figura 7

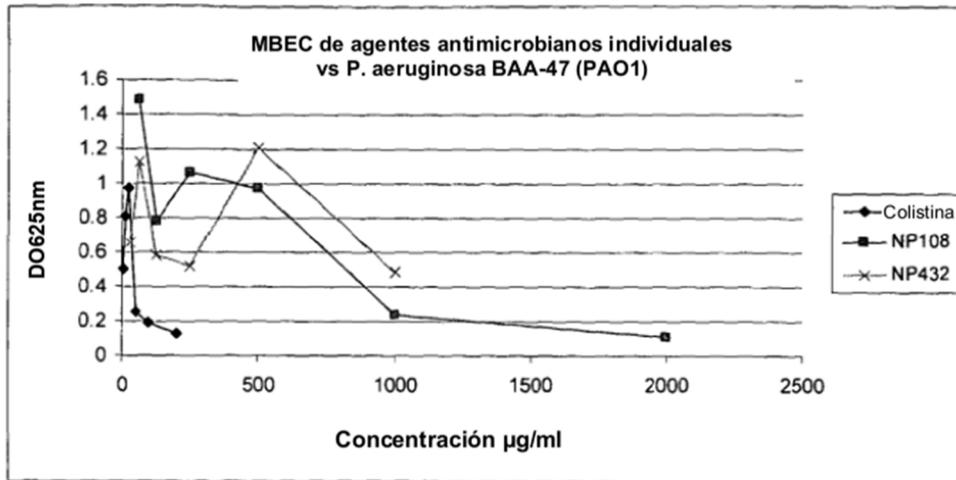


Figura 8

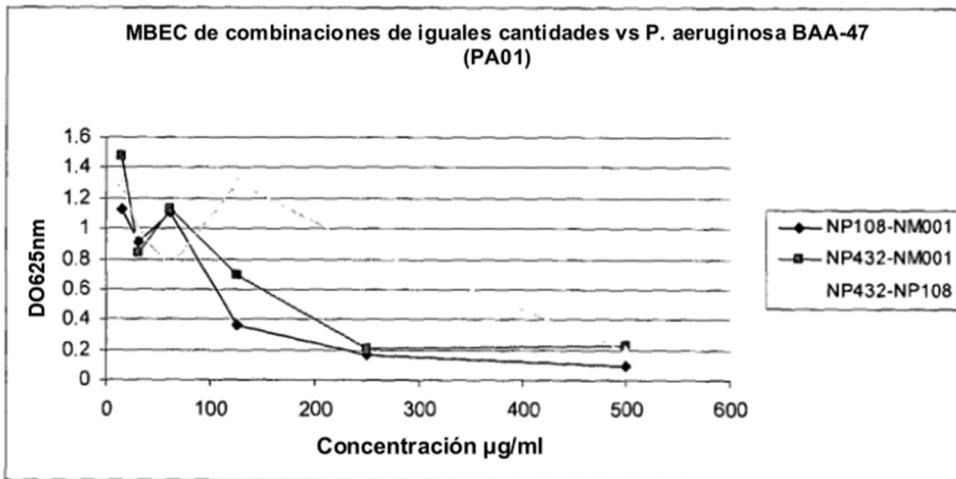


Figura 9

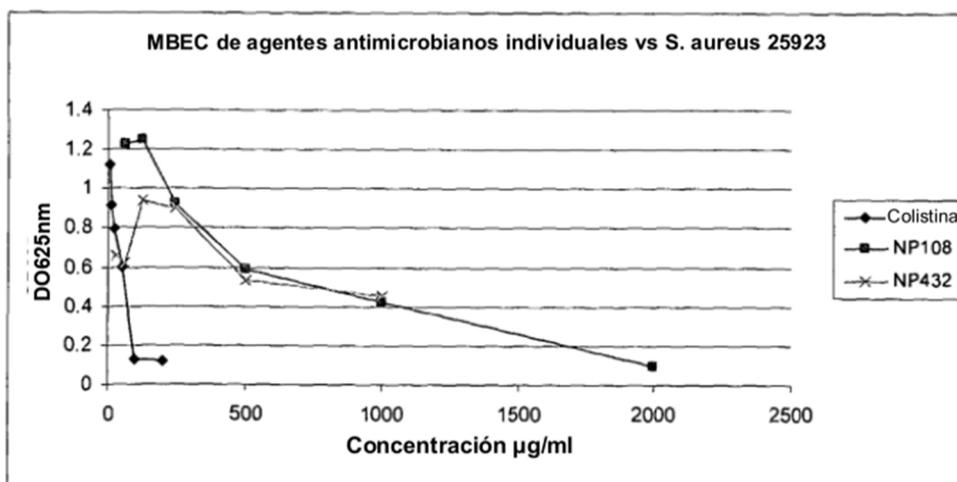


Figura 10

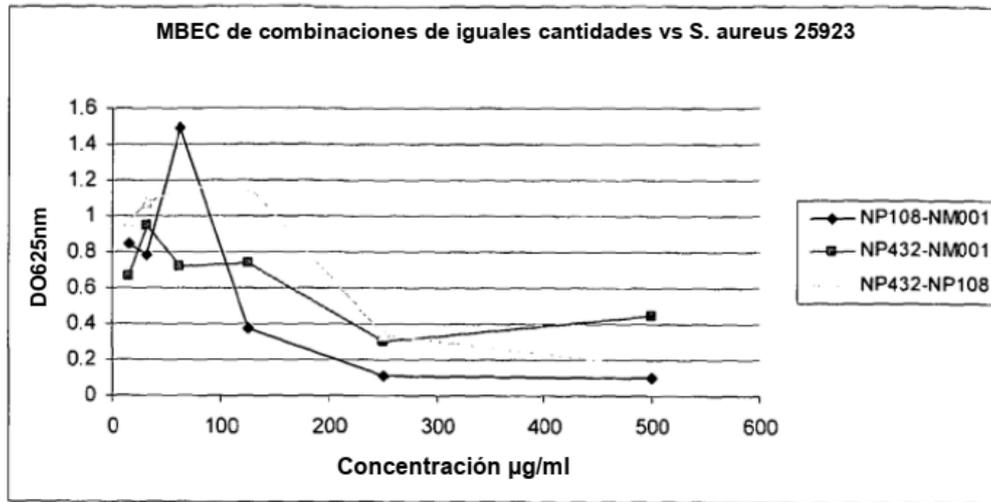


Figura 11