

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 104**

51 Int. Cl.:

C07K 7/54

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2013 PCT/US2013/031265**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013 WO13172954**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2013 E 13790527 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 2850095**

54 Título: **Inhibidores peptídicos y peptidomiméticos**

30 Prioridad:

17.05.2012 US 201261648155 P

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

21.04.2020

73 Titular/es:

**RA PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
87 Cambridge Park Drive
Cambridge, MA 02140, US**

72 Inventor/es:

**WANG, ZHAOLIN;
YE, PING;
RICARDO, ALONSO;
JOSEPHSON, KRISTOPHER;
ANDERSON, PAUL;
ARATA, MICHELLE, DENISE;
MA, ZHONG;
NIMS, NATHAN, EZEKIEL;
SCHNEIDER, EBERHARD;
SCHURMANN, GREGOR;
WAGNER, PETER;
TRECO, DOUGLAS, A.;
ZHENG, HONG;
ELBAUM, DANIEL y
BOYER, NICOLAS, CEDRIC**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 755 104 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

Inhibidores peptídicos y peptidomiméticos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a péptidos. Se proporcionan específicamente péptidos y peptidomiméticos, ya sean cíclicos o lineales, que tienen características mejoradas y beneficiosas como compuestos terapéuticos.

10 **Antecedentes de la invención**

La calicreína plasmática (EC.3.4.21.34) es una serina proteasa que se sintetiza normalmente en el hígado y circula en el plasma al unirse al quininógeno de alto peso molecular (HMWK) o como precalicreína, un precursor inactivo (zimógeno) de la calicreína. Se activa mediante escisión proteolítica por el factor XIIa y contiene una actividad endopeptidasa para escindir enlaces peptídicos después de residuos de Arg o Lys.

La calicreína plasmática desempeña un papel importante en una variedad de procesos fisiológicos incluyendo, pero sin limitarse a, la regulación de la tensión arterial, la ruta de activación por contacto de la coagulación sanguínea, la fibrinólisis, la inflamación y el dolor.

El principal regulador fisiológico de la calicreína es el inhibidor de esterasa C1, o INH C1. El INH C1 es un potente inhibidor del factor XIIa y, en condiciones normales, la inhibición del factor XIIa impide la conversión de precalicreína en calicreína y la posterior generación de bradiquinina a partir de HMWK por calicreína activada. Cabe destacar que los pacientes con mutaciones que reducen la actividad de INH C1 tienen una actividad de calicreína plasmática inadecuadamente alta que conduce a niveles elevados de bradiquinina, un potente vasodilatador y mediador del dolor. Por tanto, la deficiencia de INH C1 heredada es la causa del angioedema hereditario (AEH), un estado debilitante y potencialmente mortal caracterizado por intensa hinchazón, edema y dolor.

La bradiquinina se degrada normalmente por la enzima convertidora de angiotensina (ECA), y los pacientes tratados con inhibidores de la ECA para la reducción de la tensión arterial pueden mostrar niveles elevados de bradiquinina y padecer un síndrome denominado angioedema adquirido.

Si bien el AEH puede controlarse eficazmente mediante la administración de INH C1 purificado o recombinante, se ha demostrado que tanto los inhibidores de calicreína plasmática como los antagonistas de los receptores de bradiquinina también son eficaces en el tratamiento de AEH.

Los niveles elevados de bradiquinina también se asocian con dolor, inflamación, reclutamiento de neutrófilos, hipotensión y choque séptico. Además, la inhibición del sistema calicreína-bradiquinina puede ser útil en una variedad de situaciones clínicas incluyendo, pero sin limitarse a, edemas (incluyendo edema macular diabético, edema cerebral y edema inducido por radiación), retinopatía diabética, oclusión venosa retiniana, hemorragia intracerebral, accidente cerebrovascular, lupus sistémico, rinitis alérgica, control de escapes vasculares y pérdida de sangre durante la cirugía, coagulación intravascular diseminada, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación que resulta de circulación extracorporeal, lesión por isquemia-reperusión y artritis inflamatoria o reumatoide.

Dadas las múltiples papeles que desempeña la calicreína, sigue existiendo la necesidad de inhibidores de calicreína que tengan propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas adecuadas para la aplicación terapéutica. Las propiedades incluyen, pero no se limitan a, alta potencia, alta especificidad por la calicreína plasmática en comparación con la proteasa relacionada, estabilidad química y física, facilidad de formulación, estabilidad metabólica, farmacocinética apropiada, baja toxicidad y buena absorción desde el tubo digestivo (es decir, biodisponibilidad oral).

Heinis *et al.*, 2009. Nat Chem Biol, 5(7):502-7 divulgan una estrategia de fagos para la selección de ligandos basada en péptidos bicíclicos o lineales unidos covalentemente a un núcleo orgánico.

Baeriswyl *et al.*, 2012. ChemMedChem. 7(7):1173-6 divulgan péptidos bicíclicos con actividades inhibitoras bajas a subnanomolares hacia la serina proteasa, calicreína plasmática.

Lehmann, 2008. Expert Opin Biol Ther. 8(8):1187-99 proporciona una opinión experta sobre escalantida (DX-88), un inhibidor de calicreína plasmática.

Baeriswyl & Heinis, 2012. Protein Eng Des Sel. 26(1):81-9 divulgan experimentos en los que una biblioteca de fagos de péptidos bicíclicos pequeños se expuso a un extracto pancreático de proteasas antes de la selección por afinidad para enriquecer agentes de unión con mayor estabilidad en el entorno intestinal.

El documento WO 2013/050615 A1 se refiere a polipéptidos que se complejan con andamiajes moleculares de modo que se establecen dos o más bucles peptídicos entre puntos de unión al andamiaje.

El documento WO 2004/077062 A1 divulga un método para proporcionar un compuesto que se compone de al menos una molécula unida mediante al menos dos uniones a un andamiaje molecular.

El documento US 6.720.472 B2 se refiere a genes y proteínas HMGI y a métodos de uso de los mismos.

El documento US 2008/313749 A1 proporciona medios y métodos para producir compuestos adecuados para someter a prueba la presencia y/o identificación de un compuesto inmunogénico y/o un compuesto de unión de interés.

El documento US 5.436.138 A divulga un método para proporcionar la coexpresión de N-miristoiltransferasa y un sustrato proteico para dicha N-miristoiltransferasa en *E. coli*.

Ripka *et al.*, 1998. Bioorg Med Chem Lett. 8(4):357-60 divulgan la síntesis de bishomoalilglicina y su uso para formar inhibidores de tripéptidos cíclicos P3-P1 a través de un método de metátesis de olefinas de Grubbs.

Zuraw, 2008. N Engl. J Med. 359(10):1027-36 describen el angioedema hereditario.

El documento US 2012/101253 A1 se refiere a un ligando peptídico que comprende un polipéptido unido a un andamiaje molecular en dos o más puntos de unión.

El documento US 2010/183625 A1 proporciona métodos, kits y composiciones que incluyen un inhibidor de calicreína aislado para el tratamiento de la mucositis.

El documento US 2011/172126 A1 se refiere a conjugados peptídicos que incluyen al menos un inductor de giros en el que el inductor de giros comprende un anillo heterocíclico que contiene nitrógeno saturado o insaturado de 5-7 miembros y a métodos para producir los péptidos.

El documento US 2011/092437 A1 se refiere a depsipéptidos cíclicos y a sus usos como inhibidores de calicreína 7.

El documento US 2003/233675 A1 proporciona constructos recombinantes y métodos útiles para la mejora de plantas.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un inhibidor peptídico o peptidomimético de calicreína plasmática, en el que dicho inhibidor peptídico o peptidomimético tiene actividad inhibidora de calicreína con una CI_{50} de menos de 100 nM y comprende la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 4-6, 8-10, 12-14, 18-20, 23-25, 30, 36, 39, 41, 46, 47, 50-52, 55-58, 61, 64, 65, 67, 68, 72, 73, 75-79, 82, 85, 89, 91, 93-95, 97-100, 102, 148, 150, 155, 164, 165, 167-170, 176-178, 180-182, 184, 188-191, 196, 197, 199, 201, 202, 216 y 218.

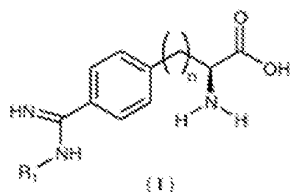
Además, la presente invención proporciona un inhibidor de calicreína plasmática según la presente invención para su uso en un método para el tratamiento o la prevención de padecer angioedema hereditario en un sujeto que lo necesita, comprendiendo dicho método administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho inhibidor.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido o peptidomimético según la presente invención y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

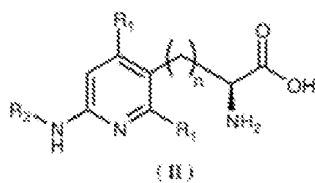
Se definen aspectos adicionales de la invención en las reivindicaciones. La divulgación en la siguiente descripción proporciona tanto información relacionada con el contenido cubierto por la definición de las reivindicaciones como información adicional relacionada con contenido que no está cubierto por las reivindicaciones. En la siguiente divulgación, en la que se hace referencia a realizaciones, tales realizaciones deben entenderse como realizaciones de la divulgación en general, mientras que el alcance de la invención se define en las reivindicaciones. La descripción de cualquier contenido no cubierto por las reclamaciones se proporciona sólo a título informativo.

En algunas realizaciones, la presente divulgación describe un péptido o peptidomimético de fórmula R_1 -Xaa0-Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Xaa5-Xaa6-Xaa7-Xaa8-Xaa9-Xaa10-Xaa11-Xaa12- R_2 , en la que: R_1 se selecciona del grupo que consiste en H, grupos acilo que contienen una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada de 1 a 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG, hidroxialquilalmidón, polipéptidos o proteínas; Xaa0 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Met, norvalina, Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Val, Lys, N-metil-metionina, N-metil-valina, N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-terc-butilglicina, N-metil-leucina, N-metil-fenilglicina, N-metil-isoleucina, N-metil-triptófano, N-metil-7-azatriptófano, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-treonina, N-metil-tirosina, N-metil-valina y N-metil-lisina; Xaa1 se selecciona del grupo que consiste en Cys, penicilamina, des-amino-Cys, D-Cys, homocisteína y Tyr; Xaa2 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, D-Glu, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, ácido

1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahydro-2H-piran-4-carboxílico, ácido aminoisobutírico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, Glu, Gly, N-metil-glutamato, ácido 2-aminopentanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminooctanoico, ácido 2-aminononanoico, 2-aminodecanoico, ácido 2-aminoundecanoico, ácido 2-aminododecanoico, octilglicina, ácido tranexámico, ácido aminovalérico y ácido 2-(2-aminoetoxi)acético; Xaa3 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, N-metil-alanina, Gly, sarcosina, Ser, N-metil-serina, Pro, Thr, N-metil-treonina, Val, N-metil-valina, Ile, N-metil-isoleucina, Phe, N-metil-fenilalanina, 4-fluorofenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-norleucina, ácido pípecólico y 2-carboxiazetidina; Xaa4 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, Phe, Ile, N-metil-isoleucina, Asn, Val, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, fenilglicina, D-fenilglicina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina y 4-isopropil-fenilglicina; Xaa5 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Cys, D-Cys, homocisteína y penicilamina; Xaa6 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Arg, η - ω -metil-arginina, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I;



, en la que $n = 1$ ó 2 ; R_1 es un hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo o de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} , y un compuesto de fórmula II;

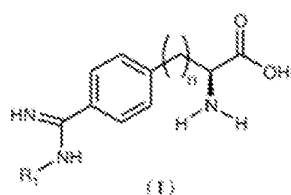


, en la que $n = 1$ ó 2 , R_1 es un hidrógeno o un grupo metilo y R_2 es un hidrógeno o un grupo protector de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} ;

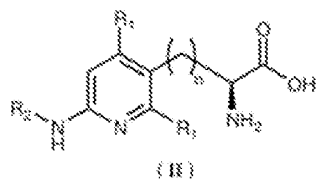
Xaa7 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, Ile, N-metilisoleucina, ciclohexilglicina, ciclopentilglicina, Glu, Phe, Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina y (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina; Xaa8 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Leu, Asn, Pro, Sar, N-metil-alanina y N-metil-leucina; Xaa9 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Cys, D-Cys, penicilamina, Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Pro, Arg, η - ω -metil-arginina, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I en el que $n = 1$ ó 2 ; R_1 es un hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo o de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} , un compuesto de fórmula II en el que $n = 1$ ó 2 , R_1 es un hidrógeno o un grupo metilo y R_2 es un hidrógeno o un grupo protector de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} ; Xaa10 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Cys, D-Cys, penicilamina; Xaa11 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ser, Cys, D-Cys, homocisteína, penicilamina; Xaa12 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Asp, Glu, Cys, D-Cys, penicilamina; y R_2 está ausente o se selecciona del grupo que consiste en $-NH_2$, $-N(CH_3)_2$, $-N$ -piperidina, $-N$ -pirrolidina, $-N,N'$ -alquilpiperazina.

En algunas realizaciones, la presente divulgación describe un péptido o peptidomimético de fórmula R_1 -Xaa0-Xaa1-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Xaa5-Xaa6-Xaa7-Xaa8-Xaa9-Xaa10-Xaa11-Xaa12- R_2 , en la que: R_1 se selecciona del grupo que consiste en H, grupos acilo que contienen una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada de 1 a 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG, hidroxialquilalmidón, polipéptidos o proteínas; Xaa0 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Met, norvalina, Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Lys y los derivados N-metilados de estos aminoácidos; Xaa1 se selecciona del grupo que consiste en Cys, penicilamina, des-amino-Cys, D-Cys y homocisteína; Xaa2 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, D-Glu, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-

aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahidro-2H-piran-4-carboxílico, ácido aminoisobutírico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, Glu, Gly, N-metil-glutamato, ácido 2-aminopentanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminooctanoico, ácido 2-aminononanoico, ácido 2-aminodecanoico, ácido 2-aminoundecanoico, ácido 2-aminododecanoico, octilglicina, ácido tranexámico, ácido aminovalérico y ácido 2-(2-aminoetoxi)acético; Xaa3 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, N-metil-alanina, Gly, sarcosina, Ser, N-metil-serina, Pro, Thr, N-metil-treonina, Val, N-metil-valina, Ile, N-metil-isoleucina, Phe, N-metil-fenilalanina, 4-fluorofenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-norleucina, ácido piperídico y 2-carboxiazetidina; Xaa4 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, Phe, Ile, N-metil-isoleucina, Asn, Val, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, fenilglicina, D-fenilglicina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluoro-valina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoroisoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina y 4-isopropil-fenilglicina; Xaa5 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Cys, D-Cys, homocisteína y penicilamina; Xaa6 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Arg, η - ω -metil-arginina, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I;



, en la que $n = 1$ ó 2 ; R_1 es un hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo o de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} , y un compuesto de fórmula II;



, en la que $n = 1$ ó 2 , R_1 es un hidrógeno o un grupo metilo y R_2 es un hidrógeno o un grupo protector de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} ;

Xaa7 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, Ile, N-metil-isoleucina, ciclohexilglicina, ciclopentilglicina, Glu, Phe, Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina y (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina; Xaa8 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Leu, Asn, Pro, Sar, N-metil-alanina y N-metil-leucina; Xaa9 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Cys, D-Cys, penicilamina, Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Pro, Arg, η - ω -metil-arginina, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I en el que $n = 1$ ó 2 ; R_1 es un hidrógeno, un grupo protector de hidroxilo o de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} , un compuesto de fórmula II en el que $n = 1$ ó 2 , R_1 es un hidrógeno o un grupo metilo y R_2 es un hidrógeno o un grupo protector de amina, por ejemplo alcóxicarbonilo C_{1-6} ; Xaa10 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Cys, D-Cys, penicilamina; Xaa11 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ser, Cys, D-Cys, homocisteína, penicilamina; Xaa12 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Asp, Glu, Cys, D-Cys, penicilamina; y R_2 está ausente o se selecciona del grupo que consiste en $-NH_2$, $-N(CH_3)_2$, $-N$ -piperidina, $-N$ -pirrolidina, $-N,N'$ -alquilpiperazina.

En algunas realizaciones, los péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación se ciclan mediante una reacción de los residuos Xaa1 y Xaa5 con un reactivo. En algunas realizaciones, se ciclan péptidos cíclicos o peptidomiméticos cíclicos con un reactivo seleccionado del grupo que consiste en: 1,2-bis(bromometil)benceno, 1,3-bis(bromometil)benceno, 1,4-bis(bromometil)benceno, 2,6-bis(bromometil)piridina y (E)-1,4-dibromobut-2-eno, 1,2-bis(bromometil)-4-alquilbenceno, en el que el grupo alquilo contiene entre 1 y 22 átomos de carbono. En algunas realizaciones, los péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación se ciclan mediante una reacción de los residuos Xaa1, Xaa5 y o bien Xaa9 o bien Xaa11 o bien Xaa12 con tris(bromometil)benceno.

En algunas realizaciones, los péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación comprenden la secuencia de aminoácidos: R_1 Xaa0 Xaa1 Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 R_2 en la que: R_1 se selecciona del grupo que consiste en H, grupos acilo que contienen una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada de 1 a 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG, hidroxialquilalmidón, polipéptidos o proteínas; Xaa0 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Met, norvalina, Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Val, Lys, N-

metil-metionina, N-metil-norvalina, N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-terc-butilglicina, N-metil-leucina, N-metil-fenilglicina, N-metil-isoleucina, N-metil-triptófano, N-metil-7-azatriptófano, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-treonina, N-metil-tirosina, N-metil-valina y N-metil-lisina; Xaa1 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en sarcosina, Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, homocisteína, norvalina, D-norvalina, N-metil-norvalina, Ser, D-Ser, N-metil-serina y penicilamina; Xaa2 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Asn, N-metil-asparagina, Gln, N-metil-glutamina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr y Lys; Xaa3 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Phe, N-metil-fenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina y Ala; Xaa4 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, N-metil-alanina, Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluoro-triptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico; Xaa5 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ser, N-metil-serina, Thr, N-metil-treonina y Ala; Xaa6 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-serina, Pro, N-metil-treonina, N-metil-valina, N-metil-isoleucina, N-metil-leucina, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-tirosina, Leu y Ala; Xaa7 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico, 4-fluorofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina y Ala; Xaa8 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Thr, N-metil-treonina, terc-butilglicina, Ser, N-metil-serina, Asn, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico; Xaa9 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, Cys, D-Cys, N-metilcisteína, penicilamina y homocisteína; Xaa10 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr y N-metil-tirosina; Xaa11 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, fenilglicina y ciclohexilglicina; Xaa12 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, homocisteína, penicilamina, Arg y Ala; y R₂ está ausente o se selecciona del grupo que consiste en -NH₂, -NR₁ (en el que R₁ es cualquier grupo alquilo cíclico o cualquier grupo alquilo lineal), PEG, hidroxialquilalmidón, polipéptidos y proteínas.

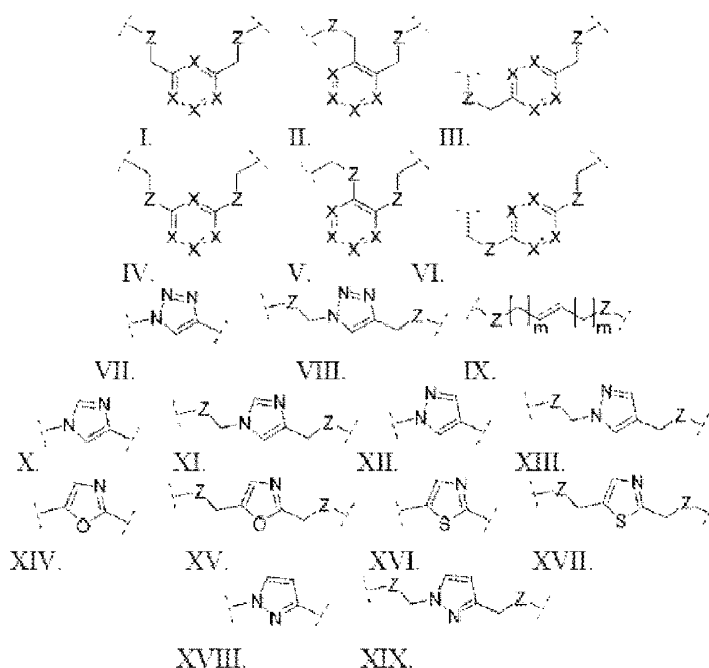
En algunas realizaciones, los péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación comprenden la secuencia de aminoácidos R₁ Xaa0 Cys Xaa2 Xaa3 Xaa4 Xaa5 Xaa6 Xaa7 Xaa8 Xaa9 Xaa10 Xaa11 Xaa12 R₂ en la que, R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, grupos acilo que contienen una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada de 1 a 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG, hidroxialquilalmidón, polipéptidos o proteínas; Xaa0 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Met, norvalina Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Val, Lys, N-metil-metionina, N-metil-norvalina, N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-terc-butilglicina, N-metil-leucina, N-metil-fenilglicina, N-metil-isoleucina, N-metil-triptófano, N-metil-7-azatriptófano, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-treonina, N-metil-tirosina, N-metil-valina y N-metil-lisina; Xaa1 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en sarcosina, Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína, norvalina, D-norvalina, N-metil-norvalina, Ser, D-Ser y N-metil-serina; Xaa2 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Asn, N-metil-asparagina, Gln, N-metil-glutamina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr y Lys; Xaa3 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Phe, N-metil-fenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina y Ala; Xaa4 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, N-metil-alanina, Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluoro-triptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico; Xaa5 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ser, N-metil-serina, Thr, N-metil-treonina y Ala; Xaa6 es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-serina, Pro, N-metil-treonina, N-metil-valina, N-metil-isoleucina, N-metil-leucina, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-tirosina, Leu y Ala; Xaa7 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico, 4-fluorofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, 5-clorotriptófano, Tyr, N-metil-tirosina y Ala; Xaa8 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo de Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína, Thr, N-metil-treonina, D-Thr, terc-butilglicina, Ser,

Asn, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico; Xaa9 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, Cys, D-Cys, N-metilcisteína, penicilamina y homocisteína; Xaa10 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr y N-metil-tirosina, Cys, D-Cys, N-metilcisteína, penicilamina y homocisteína; Xaa11 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, fenilglicina y ciclohexilglicina, Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina y homocisteína; Xaa12 está ausente o es un aminoácido seleccionado del grupo de Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína, Arg y Ala; y R₂ está ausente o se selecciona del grupo que consiste en -NH₂, -NR₁ (en el que R₁ es cualquier grupo alquilo cíclico o cualquier grupo alquilo lineal), PEG, hidroxialquilalmidón, polipéptidos y proteínas.

En una realización, los péptidos y/o peptidomiméticos descritos en el presente documento pueden ser inhibidores de serina proteasa. En una realización, la serina proteasa es calicreína plasmática.

En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que uno de los residuos en las posiciones Xaa8, Xaa9, Xaa10, Xaa11 o Xaa12 se selecciona del grupo que consiste en Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina y homocisteína. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que el residuo en la posición Xaa1 se selecciona del grupo que consiste en Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina y homocisteína. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que el péptido o peptidomimético se cicla mediante una reacción con un reactivo que reacciona de tiol. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que el reactivo se selecciona del grupo que consiste en: 1,2-bis(bromometil)benceno, 1,3-bis(bromometil)benceno, 1,4-bis(bromometil)benceno, 2,6-bis(bromometil)piridina, bis(bromometil)bencenos sustituidos y (E)-1,4-dibromobut-2-eno. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que el reactivo es 1,3-bis(bromometil)benceno.

En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que se forma un bucle entre dos residuos de cisteína. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que el bucle comprende un resto de formación de puente seleccionado del grupo que consiste en:



En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos que comprenden un bucle cíclico formado

según un método que comprende una o más reacciones químicas seleccionadas del grupo que consiste en una reacción de Heck, una reacción de Buchwald y una metátesis de olefinas.

En algunas realizaciones, se proporciona un método para el tratamiento o la prevención de padecer angioedema hereditario en un sujeto que comprende la administración a dicho sujeto que lo necesita de una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más inhibidores de serina proteasa. En algunas realizaciones, dichos métodos se caracterizan porque la serina proteasa es caliceína plasmática y el uno o más inhibidores de serina proteasa son péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos en los que la administración se selecciona del grupo que consiste en oral, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica e intravítrea. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos en los que el inhibidor de caliceína plasmática se conjuga con un polímero soluble en agua. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos en los que el polímero soluble en agua es un polímero hidrófilo. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos en los que el polímero hidrófilo se selecciona del grupo que consiste en homopolímeros de poli(óxido de alqueno), polipropilenglicoles, polioles polioxietilenados, y copolímeros de los mismos. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos en los que el polímero soluble en agua es polietilenglicol (PEG).

En algunas realizaciones, la presente divulgación describe una composición farmacéutica que comprende uno o más de los péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la presente divulgación describe un kit para el diagnóstico, pronóstico, la profilaxis o el tratamiento de angioedema hereditario en un mamífero, caracterizado porque dicho kit comprende uno o más inhibidores de caliceína plasmática, opcionalmente con reactivos y/o instrucciones de uso, en el que dichos uno o más inhibidores de caliceína plasmática comprenden; una secuencia de al menos 8 aminoácidos contiguos de cualquiera de los péptidos o peptidomiméticos de la presente divulgación. En algunas realizaciones, se proporcionan kits en los que el uno o más inhibidores de caliceína plasmática comprenden un marcador detectable o pueden unirse a un marcador detectable para formar un complejo detectable.

En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos que tienen actividad inhibidora de caliceína menor de CI_{50} de 100 nM, CI_{50} de 50 nM, CI_{50} de 20 nM, CI_{50} de 10 nM, CI_{50} de 5 nM y/o CI_{50} de 1 nM. En algunas realizaciones, tales péptidos o peptidomiméticos son cíclicos. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos que tienen una CI_{50} de menos de 50 nM y/o menos de 10 nM contra la caliceína humana. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos que tienen una CI_{50} de menos de 50 nM y/o 12 nM contra caliceína tanto humana como de ratón.

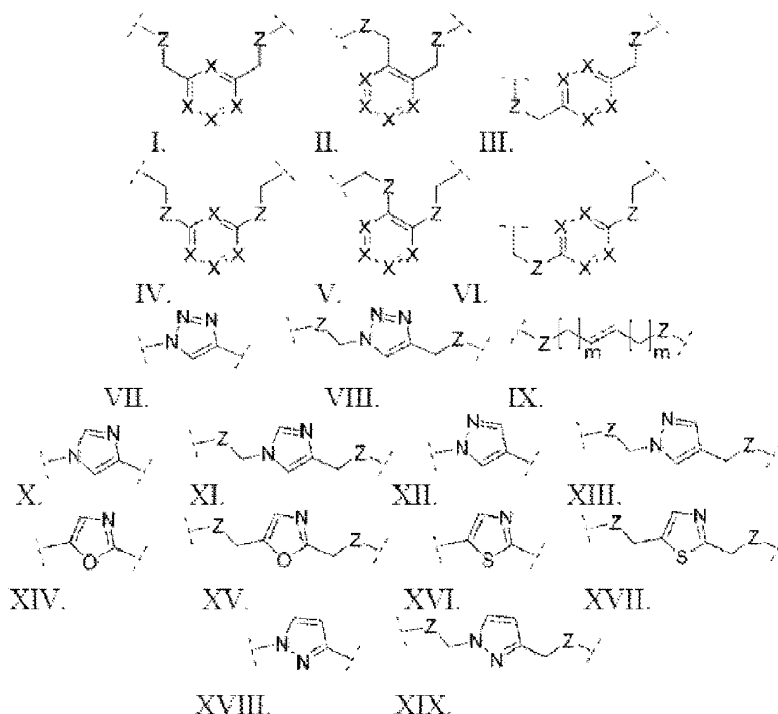
En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos, que comprenden al menos un bucle formado entre dos residuos de cisteína. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos en los que el al menos un bucle tiene una longitud de 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7 aminoácidos. En algunas realizaciones, se proporcionan péptidos o peptidomiméticos que comprenden la secuencia consenso Cys-(X₁X₂X₃)-Cys-Arg-Val-R, en la que dos cisteínas se unen entre sí mediante un resto de formación de puente para formar un bucle y -(X₁X₂X₃-) representan una región de cualquier aminoácido natural o no natural independientemente y en la que R representa cero, uno o más aminoácidos. En algunas realizaciones, se proporcionan inhibidores peptídicos o peptidomiméticos de caliceína plasmática, que comprenden una secuencia de al menos 6 aminoácidos contiguos de cualquiera de las secuencias citadas en el presente documento y que tienen al menos un reemplazo de enlace peptídico, siendo dicho al menos un reemplazo de enlace peptídico por un resto no peptídico. En algunas realizaciones, se proporcionan tales inhibidores peptídicos o peptidomiméticos, en los que el resto no peptídico se selecciona del grupo que consiste en tioamida, sulfonamida, sulfonato, fosfonamida, fosfonato, fosfotioato, fosfinato, alcano, 1 ó 2-hidroxietileno, dihidroxietileno, enlace sencillo C-C (alcano), doble enlace CC (alqueno), triple enlace CC (alquino), enlace C-O (metilenoóxido), enlace O-N o N-O, (metilnamino), triazol, hidrazida, urea, cetona, enlace uretano, (di)haloalqueno, metilmercapto, metilnamino, trifluoroetilamino, hidrazida y amidoxilo.

Descripción detallada

La presente divulgación se refiere al descubrimiento de nuevos péptidos, específicamente péptidos y peptidomiméticos cíclicos que son útiles en el diagnóstico y/o tratamiento de enfermedades en las que es deseable la inhibición de caliceína plasmática.

Tal como se usa en el presente documento, un "mimético" se refiere a una molécula que presenta algunas de las propiedades o características de otra molécula. Un "peptidomimético" (también denominado mimético de péptido) es un mimético en el que la molécula contiene elementos estructurales no peptídicos que son capaces de imitar o antagonizar la(s) acción/acciones biológica(s) de un péptido natural. Un peptidomimético puede tener muchas similitudes con los péptidos naturales, tales como: cadenas laterales de aminoácido que no se encuentran entre los 20 aminoácidos proteinógenos conocidos, grupos de unión no basados en péptidos usados para efectuar la ciclación entre los extremos o partes internas de la molécula, sustituciones del resto de hidrógeno de enlace amida por grupos metilo (N-metilación) u otros grupos alquilo, reemplazo de un enlace peptídico por un enlace o grupo químico que es resistente a tratamientos químicos o enzimáticos, modificaciones N y C-terminales y conjugación con una extensión no peptídica (tal como polietilenglicol, lípidos, hidratos de carbono, nucleósidos, nucleótidos, bases nucleosídicas, diversas moléculas pequeñas, o grupos fosfato o sulfato). Tal como se usa en el presente documento, el término

“peptidomimético cíclico” o “polipeptidomimético cíclico” se refiere a un peptidomimético que tiene como parte de su estructura una o más características cíclicas tales como un bucle, un resto de formación de puente y/o una unión interna. Tal como se usa en el presente documento, el término “resto de formación de puente” se refiere a uno o más componentes de un puente formado entre dos aminoácidos adyacentes o no adyacentes en un polipéptido. El resto de formación de puente puede ser de cualquier tamaño o composición. En algunas realizaciones, un resto de formación de puente comprende uno o más enlaces químicos entre dos aminoácidos adyacentes o no adyacentes. En algunas realizaciones, tales enlaces químicos pueden ser entre uno o más grupos funcionales en aminoácidos adyacentes o no adyacentes. En algunas realizaciones, el resto de formación de puente comprende una o más características incluyendo, pero sin limitarse a, enlaces disulfuro, enlaces tioéter y anillos cíclicos. En algunas realizaciones, el resto de formación de puente comprende un enlace disulfuro formado entre dos residuos de cisteína. En algunas realizaciones, el resto de formación de puente comprende uno o más enlaces tioéter. En algunas realizaciones, los restos de formación de puente comprenden restos no basados en proteínas ni en péptidos incluyendo, pero sin limitarse a, anillos cíclicos [incluyendo, pero sin limitarse a, estructuras de anillos aromáticos (por ejemplo, xililos)]. Tales restos de formación de puente pueden introducirse mediante reacción con reactivos que contienen múltiples haluros reactivos, incluyendo, pero sin limitarse a poli(bromometil)bencenos, poli(bromometil)piridinas, poli(bromometil)alquilbencenos y/o (E)-1,4-dibromobut-2-eno. En algunas realizaciones, los restos de formación de puente de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a las siguientes estructuras:



en las que cada X es independientemente N o CH, de modo que ningún anillo contiene más de 2 N; cada Z es independientemente un enantiomero, NR, O, S, CH₂, C(O)NR, NRC(O), S(O)_nNR, NRS(O)_n; cada m se selecciona independientemente de 0, 1, 2 y 3; cada R se selecciona independientemente de H y C₁-C₆; y cada resto de formación de puente se conecta al péptido por espaciadores C₀-C₆ seleccionados independientemente

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o prueba de los péptidos cíclicos y los métodos presentados en la divulgación, a continuación se describen métodos y materiales adecuados.

Péptidos como fármacos

En virtud de su tamaño y complejidad, los péptidos son capaces de formar numerosos contactos altamente específicos con sus dianas biológicas y pueden mostrar un alto nivel de selectividad por la diana correcta o deseada en comparación con una diana estrechamente relacionada dentro de la misma familia. En el caso de la calicreína plasmática, varias serina proteasas (tales como, pero sin limitarse a, factor Xla, factor Xlla, plasmina y similares) muestran una estrecha similitud con la calicreína plasmática y a menudo las inhiben los mismos inhibidores de molécula pequeña. Aunque una molécula pequeña identificada como un potente inhibidor de calicreína plasmática puede inhibir el factor Xla de manera menos potente, el nivel de inhibición puede ser inadecuado para impedir la

inactivación del factor XIa, con efectos no deseados sobre la cascada de coagulación sanguínea normal. Tales “efectos fuera de la diana” o “efectos secundarios” a menudo provocan que medicamentos altamente eficaces no obtengan la aprobación regulatoria debido a preocupaciones de seguridad.

5 Numerosos péptidos se han desarrollado para dar fármacos eficaces. Estos incluyen, pero no se limitan a, insulina, péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), somatostatina, vasopresina, ciclosporina A, y similares. En un caso como la insulina, el péptido terapéutico puede ser idéntico a la molécula que se produce de manera natural (es decir, la que circula en humanos y se considera “de tipo natural” en la población humana). En muchos otros casos, el péptido no es adecuado o es subóptimo para su uso terapéutico debido a una corta semivida en circulación que se debe a menudo a la inestabilidad metabólica en el cuerpo. En estos casos, se usa una forma modificada o una variante del péptido (peptidomimético) que da como resultado un comportamiento farmacocinético y farmacodinámico mejorado. En otros casos, un péptido derivado de una fuente natural tiene un mecanismo de acción equivalente pero un perfil farmacéutico preferido y puede usarse como terapia. Por ejemplo, la exenatida, una versión sintética de la exendina-4, tiene propiedades biológicas similares al péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) humano y se ha aprobado por la FDA para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Como otro ejemplo, la calcitonina de salmón, calcitonina extraída de las glándulas ultimobranquiales de salmón, se asemeja a la calcitonina humana pero es más activa que la calcitonina humana y puede usarse para tratar osteoporosis posmenopáusica, hipercalcemia, enfermedad de Paget, metástasis óseas y dolor de miembro amputado.

20 Los péptidos se limitan normalmente a vías de administración no orales. En casi todos los casos, los péptidos y peptidomiméticos deben administrarse mediante inyección, ya que incluso los péptidos muy cortos (por ejemplo, péptidos con 4-10 residuos de aminoácido) son incapaces o poco capaces de atravesar las membranas celulares que revisten el tubo digestivo. Para una disponibilidad oral eficaz, normalmente es necesario que los fármacos atraviesen las membranas tanto luminal como basolateral de las células epiteliales intestinales para entrar en la circulación sistémica. La escasa permeabilidad de la membrana y la falta de biodisponibilidad oral de los péptidos limita significativamente su uso terapéutico.

30 La eficacia de un péptido como fármaco puede verse influenciada por su estabilidad proteolítica. Dentro del cuerpo, los péptidos pueden modificarse o degradarse por enzimas, lo que puede limitar su eficacia para interactuar con una diana deseada. Mantener un nivel dado de un péptido terapéutico dentro del cuerpo o el torrente sanguíneo puede ser difícil debido al flujo de salida. La tasa de flujo de salida de un péptido del cuerpo puede variar y debe monitorizarse cuando se considera la administración de péptidos terapéuticos.

35 La estabilidad metabólica de los péptidos es importante ya que está relacionada con su flexibilidad global, fluctuaciones intramoleculares, diversos procesos dinámicos internos, así como muchas funciones biológicas. La estabilidad metabólica de los péptidos puede ser crítica en el desarrollo de productos farmacéuticos, puede afectar a parámetros tales como, pero sin limitarse a, aclaramiento, semivida y biodisponibilidad de los fármacos.

40 En general, las propiedades de los péptidos naturales no son adecuadas generalmente para su uso como agentes terapéuticos para humanos. Es improbable que los inhibidores de calicreína plasmática que se compongan exclusivamente de aminoácidos naturales muestren la estabilidad proteolítica y metabólica necesaria para su uso como agentes terapéuticos para humanos. Sigue existiendo una importante necesidad médica de inhibidores de calicreína plasmática altamente potentes y altamente específicos y formulaciones de inhibidores de calicreína plasmática con propiedades sistemáticas.

45 *Descubrimiento de peptidomiméticos*

50 Pueden identificarse peptidomiméticos mediante una variedad de medios. En algunos casos, se usa un péptido natural o una secuencia que se encuentra en una proteína natural como punto de partida. En estos casos, la secuencia de péptido de partida se ha elegido porque se sabe que interacciona físicamente con una molécula diana deseada. Puede elegirse un péptido natural porque es un agonista o antagonista de un receptor, inhibe una enzima o modula un canal. Puede elegirse una secuencia que se encuentra en una proteína natural porque comprende un dominio que participa en una interacción con otra proteína o alguna otra molécula en un humano o animal. En muchos casos, pueden obtenerse datos estructurales sobre las proteínas que interaccionan de bases de datos públicas (por ejemplo, el Banco de datos de proteínas de RCSB; H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne (2000) The Protein Data Bank Nucleic Acids Research, 28: 235-242) y puede identificarse la región específica de una proteína que interacciona con la diana deseada a partir de datos cristalográficos sobre el complejo proteico. En otros casos, pueden prepararse péptidos correspondientes a diversas partes de una proteína y someterse a prueba para la unión a una diana de interés. Una vez identificadas, se introducen modificaciones químicas para mejorar su estabilidad y potencia, con el peptidomimético resultante que tiene parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos mejorados.

65 En otros casos, se aísla un péptido mediante uno de varios métodos para aislar secuencias peptídicas de bibliotecas de péptidos basándose en sus afinidades por proteínas diana, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, lípidos o células completas específicos. Tales métodos incluyen presentación en fagos, presentación en ARNm, presentación en ribosomas, presentación en ADN, ensamblaje codificado por ADN y cribado de doble híbrido, así como sus

modificaciones (véanse, por ejemplo, Takashashi, T.T *et al.* (2003) Trends in Biochem. Sci. 28(3):159-165; Kay, B.K. *et al.* (2001) Methods 24:240-246; He, M y Taussig, M (2002). Briefins in Functional Genomics and Proteomics. 1(2): 204-212; Rothe, A. *et al.* (2006) The FASEB Journal. 20(10):1599-1610.)

Los polipéptidos pueden adoptar estructuras tridimensionales que son capaces de unirse a otras moléculas biológicas con ciertos grados de afinidad y especificidad. Algunos se unirán con afinidad y especificidad muy altas. Una biblioteca de secuencias polipeptídicas aleatorias estará poblada por moléculas con una amplia variedad de estructuras tridimensionales. Para aislar un polipéptido con una conformación que interaccione con una proteína diana específica, pueden prepararse secuencias individuales de la biblioteca y someterse a prueba o cribarse por su afinidad con la diana. Sin embargo, para bibliotecas muy grandes ($> 10^6$ miembros), el cribado de secuencias individuales por la afinidad de unión no es factible. Para superar esta limitación, se han desarrollado varias técnicas para seleccionar nuevos polipéptidos de mezclas complejas extremadamente grandes en virtud de su afinidad de unión a una diana. Dado que se predice que los polipéptidos de unión de alta afinidad están presentes a una frecuencia muy baja dentro de la población, estos métodos de selección se basan en mantener un enlace físico entre el polipéptido y el material genético (generalmente un ácido nucleico tal como ADN o ARN) que codifica para el polipéptido de modo que la selección del polipéptido incluye automáticamente la selección de un ácido nucleico que codifica para el mismo. El ácido nucleico que codifica para el polipéptido seleccionado puede amplificarse y secuenciarse para revelar la secuencia tanto del ácido nucleico como del polipéptido. En un enfoque, presentación en fagos (véanse Cwirla, S.E. *et al.* (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 87:6378-6382; Dower, W.J. and Cwirla, S.E. patentes estadounidenses n.ºs 5.427.908 y 5.580.717), cada miembro de polipéptido aleatorio de la biblioteca se presenta en la superficie de una partícula de bacteriófago como parte de una proteína de fusión entre el polipéptido y una de las proteínas de la cubierta de fago. La partícula de fago proporciona el enlace entre el polipéptido y el ADN codificante localizándolos conjuntamente dentro de la misma entidad física, y el ADN codificante puede amplificarse posteriormente infectando bacterias con el fago seleccionado. En otro enfoque, presentación en ribosomas (véanse Kawasaki, G.H. patentes estadounidenses n.ºs 5.658.754 y 5.643.768), se traduce una mezcla de moléculas de ARN mensajero (ARNm) *in vitro* de una manera que produce, para cada ARNm en la mezcla, un complejo estabilizado de ribosoma, ARNm y polipéptido recién sintetizado que sobresale del ribosoma. La estabilización del complejo permite que se mantenga unido mientras se criban los polipéptidos para determinar la unión a una diana de interés. Los ARNm que codifican para los polipéptidos seleccionados pueden amplificarse usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y luego caracterizarse, por ejemplo, mediante secuenciación.

En aún otro enfoque, la presentación en ARNm (véase Szostak, J. W. y Roberts, R.W., patente estadounidense n.º 6.258.558), cada molécula de ARNm en la biblioteca se modifica mediante la adición covalente de un resto similar a la puromicina en su extremo terminal 3'. El resto similar a la puromicina es un análogo del tallo aceptor de aminoacil-ARNt que funciona como aceptor de peptidilo, y puede añadirse a una cadena de polipéptido en crecimiento mediante la actividad peptidil transferasa de un ribosoma que traduce el ARNm. Durante la traducción *in vitro*, el ARNm y el polipéptido codificado se unen covalentemente a través del resto similar a la puromicina, creando una fusión ARN-polipéptido. Después de seleccionar una molécula de fusión mediante la unión de su componente de polipéptido a una diana, el componente de ARN de la molécula de fusión seleccionada puede amplificarse usando PCR y luego caracterizarse. Se han desarrollado varios otros métodos para producir un enlace físico entre un polipéptido y su ácido nucleico codificante para facilitar la selección y amplificación (véanse Yanagawa, H., Nemoto, N., Miyamoto, E., y Husimi, Y., patente estadounidense n.º 6.361.943; Nemoto, H., Miyamoto-Sato, E., Husimi, H. y Yanagawa, H. (1997). FEBS Lett. 414:405-408; Gold, L., Tuerk, C., Pribnow, D., y Smith, J.D., patentes estadounidenses n.ºs 5.843.701 y 6.194.550; Williams, R.B., patente estadounidense n.º 6.962.781; Baskerville, S. y Bartel, D.P (2002). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 99:9154-9159; Baskerville, D.S. y Bartel, D.P., patente estadounidense n.º 6.716.973; Sergeeva, A. *et al.* (2006) Adv. Drug Deliv. Rev. 58:1622-1654).

La presentación en ARNm es un método particularmente útil para crear grandes bibliotecas de péptidos. Por consiguiente, se proporcionan en el presente documento métodos de selección de un polipéptido (o un ARNm que codifica para un polipéptido) que interacciona con la caliceína plasmática. Una biblioteca contendrá generalmente al menos 10^2 miembros, más preferiblemente al menos 10^6 miembros, y más preferiblemente al menos 10^9 miembros (por ejemplo, cualquiera de los complejos ARNm-polipéptido). En algunas realizaciones, la biblioteca incluirá al menos 10^{12} miembros o al menos 10^{14} miembros. En general, los miembros diferirán unos de otros; sin embargo, se espera que haya algún grado de redundancia en cualquier biblioteca. La biblioteca puede existir como una mezcla única de todos los miembros, o puede dividirse en varias combinaciones que se mantienen en recipientes o pocillos independientes, cada uno con un subconjunto de la biblioteca, o la biblioteca puede ser una colección de recipientes o pocillos en una placa, conteniendo cada recipiente o pocillo solamente uno o algunos miembros de la biblioteca.

Cada ARNm en la biblioteca comprende preferiblemente una secuencia de iniciación de la traducción, un codón de iniciación y una región codificante de polipéptido variable (por ejemplo, proteína o péptido corto) que se genera, por ejemplo, mediante un ensamblaje aleatorio o semialeatorio de nucleótidos, y varía de un ARNm a otro en la biblioteca (aunque probablemente habrá algún grado de redundancia dentro de la biblioteca). La secuencia de iniciación de la traducción, el codón de iniciación y la región codificante de polipéptido variable pueden estar flanqueados por secuencias fijas conocidas que pueden usarse para la amplificación por PCR del ARNm, por ejemplo, después de la selección. Otras secuencias fijas que pueden estar presentes incluyen aquellas que corresponden a secuencias que codifican para aminoácidos que pueden participar en reacciones de reticulación químicas o enzimáticas, de tal manera

que el polipéptido producido puede modificarse o derivatizarse después de la traducción, o que codifican para una extensión C-terminal fija tal como una etiqueta de polipéptido que puede facilitar la purificación de las fusiones péptido-ARNm.

- 5 Una vez que se genera una biblioteca de ARNm derivatizado con puomicina, la biblioteca puede traducirse. Los polipéptidos resultantes (por ejemplo, polipéptidos presentados) se unirán a sus ARNm correspondientes tal como se describe en el presente documento (por ejemplo, como complejo ARNm-polipéptido).

10 Se han descrito en la bibliografía numerosos sistemas de traducción *in vitro*. Los sistemas más comunes utilizan lisados de reticulocitos de conejo, extractos de germen de trigo o extractos de *E. coli*, que están disponibles a partir de varias fuentes comerciales en forma de kit (por ejemplo, Ambion, Austin, TX; Promega, Madison, WI; Novagen/EMD Chemicals, Gibbstown, NJ; Qiagen, Valencia, CA).

15 A diferencia de la presentación en fagos u otros sistemas que dependen de la traducción dentro de células, la presentación de ARNm se adapta fácilmente para producir directamente bibliotecas de peptidomiméticos en lugar de péptidos realizando la traducción *in vitro* con aminoácidos no naturales o no convencionales. Los 20 aminoácidos proteinógenos naturales se identifican mediante las designaciones o bien de una letra o bien de tres letras de la siguiente manera: ácido aspártico (Asp:D), isoleucina (Ile:I), treonina (Thr:T), leucina (Leu:L), serina (Ser:S), tirosina (Tyr:Y), ácido glutámico (Glu:E), fenilalanina (Phe:F), prolina (Pro:P), histidina (His:H), glicina (Gly:G), lisina (Lys:K), alanina (Ala:A), arginina (Arg:R), cisteína (Cys:C), triptófano (Trp:W), valina (Val:V), glutamina (Gln:Q), metionina (Met:M), asparagina (Asn:N). Los aminoácidos que se producen de manera natural incluyen solamente sus formas estereoisoméricas levógiras (L).

25 Los aminoácidos no naturales tienen cadenas laterales u otras estructuras que no están presentes en los 20 aminoácidos naturales enumerados anteriormente e incluyen, pero no se limitan a: N-metil-aminoácidos, N-alkil-aminoácidos, alfa,alfa-aminoácidos sustituidos, beta-aminoácidos, alfa-hidroxi-aminoácidos, D-aminoácidos y otros aminoácidos no naturales conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, Josephson *et al.*, (2005) J. Am. Chem Soc. 127: 11727-11735; Forster, A.C. *et al.* (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 100: 6353-6357; Subtelný *et al.*, (2008) J. Am. Chem Soc. 130: 6131-6136; Hartman, M.C.T. *et al.* (2007) PLoS ONE 2:e972; y Hartman *et al.*, (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 103:4356-4361).

35 Esencialmente, puede usarse cualquier aminoácido que, cuando se une a un ARNt apropiado, puede ensamblarse para dar un polímero por ribosomas naturales o mutantes (véanse Sando, S. *et al.*, (2007) J. Am. Chem Soc. 129:6180-6186; Dedkova, L. *et al.* (2003) J. Am. Chem Soc. 125: 6616-6617; Josephson, K., Hartman, M.C.T. y Szostak, J.W. (2005) J. Am. Chem Soc. 127:11727-11735; Forster, A.C. *et al.* (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 100:6353-6357; Subtelný, A.O., Hartman, M.C.T. y Szostak, J.W. (2008) J. Am. Chem Soc. 130:6131-6136; y Hartman, M.C.T. *et al.* (2007) PLoS ONE 2:e972).

40 Cuando se desean aminoácidos no naturales, puede ser ventajoso usar un sistema de traducción purificado que carece de ARNt aminoacilados endógenos (Shimizu, Y. *et al.* (2001) Nat. Biotech. 19:751-755; Josephson, K., Hartman, M.C.T. y Szostak, J.W. (2005) J. Am. Chem Soc. 127: 11727-11735; Forster, A.C. *et al.* (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 100: 6353-6357). Si se usan aminoácidos no naturales con un sistema de traducción *in vitro* basado en un lisado o extracto, puede ser deseable agotar el extracto de ARNt endógenos, tal como se describió previamente (véase Jackson, R.J., Naphtine, S. y Brierley, I. (2001) RNA 7:765-773). Un sistema basado en factores de traducción de *E. coli* purificados está disponible comercialmente (PURExpress™; New England Biolabs, Ipswich, MA). Estos sistemas son particularmente útiles para la traducción con aminoácidos no naturales para producir peptidomiméticos.

45 Cuando se usan aminoácidos naturales con un sistema de traducción *in vitro* basado en un lisado o extracto, la traducción depende de la carga enzimática de aminoácidos en los ARNt por las ARNt sintetasas, todos los cuales son componentes de los extractos. Alternativamente, los sistemas de traducción *in vitro* que usan ribosomas y factores de traducción purificados, o extractos agotados en ARNt, requieren que se proporcionen ARNt aminoacilados. En estos casos, pueden cargarse ARNt purificados o sintetizados *in vitro* con aminoácidos usando procedimientos químicos (véase Frankel, A., Millward, S.W. y Roberts, R.W. (2003) Chem. Biol. 10:1043-1050) o enzimáticos (Josephson, K., Hartman, M.C.T. y Szostak, J.W. (2005) J. Am. Chem Soc. 127: 11727-11735; Murakami, H. *et al.* (2006) Nat. Methods 3:357-359).

50 Numerosas publicaciones describen la recuperación de polipéptidos presentados en ARNm a partir de complejos de traducción, y estos son adecuados para su uso con los métodos descritos en el presente documento (Liu, R. *et al.* (2000) Methods Enzymol. 318:268-293; Baggio, R. *et al.* (2002) J. Mol. Recognit. 15:126-134; patente estadounidense n.º 6.261.804). La recuperación de los polipéptidos presentados en ARNm puede facilitarse mediante el uso de diversas "etiquetas" que se incluyen en el polipéptido mediante la traducción de secuencias fijas de la secuencia codificante del polipéptido y que se unen a moléculas o sustratos específicos. Numerosos reactivos para capturar tales etiquetas están disponibles comercialmente, incluidos los reactivos para capturar la cola de His, etiqueta FLAG, etiqueta de glutatión-S-transferasa (GST), etiqueta strep, etiqueta de VHS, etiqueta de T7, etiqueta S, etiqueta DsbA, etiqueta DsbC, etiqueta Nus, etiqueta myc, etiqueta de hemaglutinina (HA) o etiqueta Trx (Novagen, Gibbstown, NJ; Pierce, Rockford, IL). Los péptidos presentados en ARNm también pueden aislarse uniéndose a una cola de poliA en el

ARNm a la resina de polidT, o una combinación de una cola de poliA y una cola de His.

Después de realizarse la reacción de traducción *in vitro*, y antes de la etapa de selección, la parte de ARNm del ARN funcionalizado se somete normalmente a transcripción inversa para producir una molécula híbrida de ARN-ADN (por ejemplo, un ADNc). Esto sirve para proteger al ARN frente a la degradación y también impide que el ARN se pliegue en una estructura secundaria que podría unirse a la diana de selección, lo que conduciría a la selección de productos inapropiados (por ejemplo, la selección de aptámeros de ARN en lugar de aptámeros de polipéptido).

Después de la traducción *in vitro* y el aislamiento de fusiones péptido-ARNm, el resto peptídico puede modificarse mediante reticulación intramolecular o intermolecular, conjugación química, escisión enzimática, truncamiento o extensión con monómeros de aminoácido adicionales. Una forma de lograr esto es mediante la incorporación de aminoácidos no naturales con cadenas laterales reactivas en los polipéptidos que componen la biblioteca. Después de la traducción, los polipéptidos recién formados pueden reaccionar con moléculas que reaccionan específicamente con la cadena lateral reactiva del aminoácido incorporado. Por ejemplo, un aminoácido con una cadena lateral de alquino terminal puede incorporarse en la biblioteca de polipéptidos y posteriormente hacerse reaccionar con un azido-azúcar, creando una biblioteca de polipéptidos presentados con azúcares unidos en las posiciones de las cadenas laterales de alquino (Josephson, K., Hartman, M.C.T. y Szostak, J.W. (2005) J. Am. Chem. Soc. 127: 11727-11735). Puede usarse una variedad de cadenas laterales reactivas para tal conjugación postraduccional, incluidas aminas, grupos carboxilo, azidas, alquinos terminales, alquenos y tioles.

Una modificación particularmente útil se basa en la reticulación de aminoácidos para producir estructuras cíclicas. Las regiones cíclicas en una proteína contienen un dominio rígido, lo que reduce la flexibilidad conformacional y los grados de libertad de rotación, lo que conduce a una unión de afinidad muy alta a proteínas diana. Normalmente, la reactividad química de cadenas laterales de aminoácido específicas y/o los extremos carboxilo o amino-terminales del polipéptido se aprovechan para reticular dos sitios del polipéptido para producir una molécula cíclica. En un método, los grupos tiol de dos residuos de cisteína se reticulan mediante reacción con dibromóxileno (véase Timmerman, P. *et al.*, (2005) ChemBioChem 6:821-824). Pueden usarse tri y tetrabromóxileno para producir polipéptidos con dos y tres bucles, respectivamente.

En otro método a modo de ejemplo, un grupo amino de cadena lateral y un grupo amino terminal se reticulan con glutarato de disuccinimidilo (véase Millward, S.W. *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 127:14142-14143, 2005). En otros enfoques, la ciclación se logra produciendo un grupo de formación de puente de tioéter entre dos sitios en el polipéptido (véase Timmerman, P. *et al.*, (2005) ChemBioChem 6:821-824). Un método químico se basa en la incorporación de un aminoácido modificado con N-cloroacetilo en el extremo N-terminal del polipéptido, seguido de una reacción espontánea con la cadena lateral de tiol de un residuo de cisteína interno (véase Goto, Y. *et al.* (2008) ACS Chem. Biol. 3:120-129). Un método enzimático se basa en la reacción entre (1) una cisteína y (2) un grupo deshidroalanina o deshidrobutirina, catalizada por una sintetasa lantibiótica, para crear el grupo de formación de puente de tioéter (véase Levengood, M.R. y Van der Donk, W.A., Bioorg y Med. Chem Lett. 18:3025-3028, 2008). El grupo funcional deshidro también puede generarse químicamente mediante la oxidación de cadenas laterales de aminoácido que contienen selenio incorporadas durante la traducción (véase Seebeck, F.P. y Szostak, J.W. J. Am. Chem. Soc. 2006).

Una biblioteca de fusiones ARNm-polipéptido (también denominada en el presente documento biblioteca de presentación en ARNm) generada usando los métodos descritos anteriormente, y que puede haberse sometido o no a una modificación postraduccional (tal como ciclación del polipéptido, tal como se describió anteriormente), puede someterse a una etapa de selección discontinua para aislar aquellos complejos que presentan polipéptidos deseables. Cuando se usa calicreína plasmática, en la etapa de selección se aísla normalmente mediante purificación de una fuente biológica natural o de un sistema de expresión de ADN recombinante. Si es deseable, la calicreína plasmática aislada de cualquier fuente puede activarse en primer lugar mediante tratamiento con factor XIIa.

Normalmente, la calicreína plasmática activada se conjuga con un sustrato sólido, tal como una perla de agarosa o de polímero sintético. Existen numerosos métodos disponibles para inmovilizar la calicreína plasmática en un soporte sólido. En un método particularmente útil, la calicreína plasmática se conjuga con biotina y se usan perlas de estreptavidina para inmovilizar la enzima. Las perlas que comprenden la calicreína plasmática inmovilizada se mezclan con la biblioteca de presentación en ARNm y se incuban en condiciones (por ejemplo, temperatura, fuerza iónica, cationes divalentes y moléculas de unión competidoras) que permiten que miembros específicos de la biblioteca se unan a la diana. Alternativamente, la enzima puede estar libre en disolución y, después de unirse a un polipéptido apropiado, las fusiones ARNm-polipéptido unidas a la calicreína plasmática se capturan mediante perlas modificadas apropiadamente.

Las condiciones de unión pueden variarse para cambiar la rigurosidad de la selección. Por ejemplo, pueden añadirse bajas concentraciones de un agente de unión competitivo para garantizar que los polipéptidos seleccionados tengan una afinidad relativamente mayor. Alternativamente, el periodo de incubación puede elegirse para que sea muy breve, de tal manera que sólo se aislarán los polipéptidos con altas velocidades de k_{on} . De esta manera, las condiciones de incubación desempeñan un papel importante en la determinación de las propiedades de los polipéptidos seleccionados. También pueden emplearse selecciones negativas. En este caso, se lleva a cabo una selección para retirar polipéptidos con afinidad por el sustrato al que se une la diana (por ejemplo, Sepharose) aplicando la biblioteca

presentada a perlas de sustrato que carecen de la proteína diana. Esta etapa puede retirar los ARNm y sus polipéptidos codificados que no son específicos para la proteína diana. Están disponibles numerosas referencias que describen cómo realizar experimentos de selección. (Véanse, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 6.258.558; Smith, G.P. y Petrenko, V.A., (1997) Chem. Rev. 97:391-410; Keefe, A.D. y Szostak, J.W. (2001) Nature 15:715-718; Baggio, R. *et al.* (2002) J. Mol. Recog. 15:126-134; Sergeeva, A. *et al.* (2006) Adv. Drug Deliv. Rev. 58:1622-1654).

Se espera que la frecuencia a la que las moléculas de unión están presentes en una biblioteca de secuencias aleatorias sea muy baja. Por tanto, en la etapa de selección inicial, deben recuperarse muy pocos polipéptidos que cumplan los criterios de selección (y sus ARNm asociados). Normalmente, la selección se repite con los ARNm seleccionados de la primera tanda de selección. Esto se logra mediante el uso de PCR para amplificar los ARNm o los ADNc correspondientes seleccionados en la primera tanda, seguido de transcripción *in vitro* para producir una nueva biblioteca de ARNm. Se usan cebadores de PCR correspondientes a los extremos 5' y 3' de los ARNm en la biblioteca. Normalmente, el cebador 5' se extenderá en el sentido de 5' más allá del extremo del ARNm para que se añada un promotor bacteriano, tal como un promotor de T7, al extremo 5' de cada molécula amplificada. Una vez amplificado, el ADN bicatenario puede usarse en una reacción de transcripción *in vitro* para generar el ARNm para una tanda de selección posterior.

El proceso de selección implica normalmente una serie de tandas o ciclos, en los que la reserva de moléculas seleccionadas se enriquece gradualmente en un conjunto específico de secuencias al final de cada tanda. Las condiciones de selección pueden ser las mismas para cada tanda, o las condiciones pueden cambiar, por ejemplo, para aumentar la rigurosidad de la selección en tandas posteriores. El progreso de la selección puede monitorizarse mediante el uso de aminoácidos marcados isotópicamente, tales como ³⁵S-metionina. Se mide la cantidad de polipéptido radiomarcado unido a la diana en cada tanda, y un aumento progresivo del radiomarcador recuperado es indicativo de un enriquecimiento progresivo en moléculas de ARN que codifican para polipéptidos con afinidad de unión por la diana. Después de cualquier tanda, los productos de PCR pueden clonarse y secuenciarse. En general, la clonación y la secuenciación se realizan después de una tanda en la que se recuperan cantidades apreciables (por ejemplo, > 2% sobre el fondo con respecto a perlas que carecen de calicreína plasmática inmovilizada) de polipéptido radiomarcado en la reserva unida a la diana. Las secuencias que se encuentran en múltiples aislados son candidatos para codificar para polipéptidos que se unen específicamente a la diana. Alternativamente, la secuenciación de alto rendimiento de miles de clones puede realizarse después de la primera tanda o tandas posteriores. Las secuencias que aumentan en frecuencia entre las tandas tercera y cuarta son candidatos para codificar para polipéptidos que se unen específicamente a la diana. El polipéptido codificado por cualquier secuencia puede traducirse o sintetizarse y someterse a prueba para determinar la afinidad de unión por la proteína diana original usada en la selección.

Las bibliotecas y los métodos de la presente divulgación pueden usarse para optimizar la función o propiedades de un polipéptido. En un enfoque, se usa PCR mutagénica (Keefe, A.D. y Szostak, J.W. (2001) Nature 15:715-718) para introducir variación de secuencia en la biblioteca una vez que la población se enriquece en polipéptidos con un cierto nivel de afinidad de unión. Alternativamente, puede replicarse una única secuencia de ARN que codifica para un polipéptido con propiedades de unión definidas pero con un nivel definido de mutaciones, o puede realizarse una PCR mutagénica para producir una reserva de moléculas mutantes. Tras la traducción *in vitro*, se espera que la mezcla resultante de moléculas de ARNm producidas a partir de tal reserva codifique para polipéptidos con un rango de afinidades mejoradas, similares o reducidas en comparación con la secuencia de partida, y puede esperarse que una selección realizada con ARNm de tal reserva identifique polipéptidos con afinidad mejorada si se usa un régimen de restricción apropiado durante la selección.

En un segundo enfoque, la optimización se realiza de manera dirigida. Una secuencia que codifica para un polipéptido con propiedades de unión o funcionales establecidas se somete a mutagénesis dirigida al sitio, mediante lo cual se produce una serie de secuencias, teniendo cada secuencia un codón reemplazado, por ejemplo, por un codón de alanina. El número de secuencias en el conjunto es igual al número de residuos de aminoácido que van a mutarse. Después de la traducción *in vitro*, el producto de polipéptido de cada mutante de "barrido de alanina" se somete a prueba para determinar las propiedades de unión o funcionales. Los sitios en los que una sustitución de alanina afecta a la unión o la función del polipéptido se consideran residuos críticos. De manera similar, puede realizarse un barrido de N-metilo, de tal manera que cada residuo se reemplace por el derivado de N-metilo, y pueden identificarse las posiciones en la estructura principal del péptido que pueden tolerar las sustituciones de N-metilo.

Alternativamente, las secuencias pueden formar una reserva, someterse a una o más tandas de una selección de alta rigurosidad, y se aísla una reserva de secuencias que representan polipéptidos de unión de alta afinidad. Los residuos críticos se identifican después de la secuenciación de ADN del ADN recuperado como aquellos que no pueden sustituirse por un residuo de alanina sin pérdida de actividad. Una vez que se identifican los residuos críticos, se produce una reserva de moléculas de ARNm que codifican para una amplia variedad de aminoácidos naturales (o no naturales) en cada posición crítica. La reserva resultante se somete a una o más tandas de una selección de alta rigurosidad (con la mezcla apropiada de ARNt cargados con aminoácidos naturales o no naturales), y las secuencias que representan polipéptidos de unión de alta afinidad se aíslan después de traducción *in vitro*. De esta manera, puede identificarse un polipéptido óptimo. Dado que la secuencia óptima puede no identificarse necesariamente combinando residuos óptimos en sitios individuales, es útil someter a prueba las mutaciones en múltiples sitios en combinación.

Tanto el barrido de alanina como de N-metilo también pueden realizarse usando enfoques de síntesis química, tales como la síntesis peptídica en fase sólida (véase, por ejemplo, Coin, I *et al.* (2007) Nature Protocols 2(12):3247-56), para producir péptidos.

- 5 Una vez que se identifica una reserva, población o subconjunto de péptidos, pueden evaluarse para aplicaciones terapéuticas o de diagnóstico, incluyendo propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas mejoradas.

En una realización, se evalúan los péptidos para determinar uno o más de afinidad de unión a la diana, actividad en ensayos bioquímicos o basados en células, resistencia a proteasas, permeabilidad *in vitro* o *in vivo*, presencia de propiedades de tipo farmacológico tales como la unión a proteínas plasmáticas, metabolismo (en microsomas, hepatocitos o plasma) y la inhibición de PGP/CYP. Los péptidos de la presente divulgación también pueden someterse a prueba para determinar la biodisponibilidad oral, toxicidad, actividad hERG, semivida en circulación, otros parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, y eficacia en modelos animales de enfermedad.

15 *Péptidos cíclicos y peptidomiméticos cíclicos de la divulgación.*

Según la presente divulgación, una vez que se identifica un único péptido o una reserva de moléculas de péptidos candidatos, pueden someterse a una o más tandas de optimización de la relación estructura-actividad (SAR, por sus siglas en inglés) usando técnicas de síntesis química y peptídica convencionales. Tal optimización puede incluir consideraciones tales como evitar las cadenas laterales polares cargadas (Asp, Glu, Arg, Lys) que pueden inhibir la penetración celular, evitar las cadenas laterales que representen cargas metabólicas (Tyr, Met, Trp, Cys), mejorar la solubilidad, evitar un peso molecular innecesario, evitar enlaces rotables y lipofilicidad.

En una realización, es un objetivo de la presente divulgación proporcionar peptidomiméticos cíclicos diseñados para ser metabólicamente estables y permeables a las células.

Tal como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" incluye los residuos de los aminoácidos naturales, así como los aminoácidos no naturales. El término también incluye aminoácidos que portan un grupo protector de amino convencional (por ejemplo, acetilo o benciloxicarbonilo), así como aminoácidos naturales y no naturales protegidos en el extremo carboxilo-terminal (por ejemplo, como una amida o un éster alquílico (C₁-C₆), fenílico o bencilíco; o como una alfa-metilbencilamida). Los expertos en la técnica conocen otros grupos protectores de amino y carboxilo adecuados (véanse, por ejemplo, Greene, T. W.; Wutz, P. G. M., Protecting Groups In Organic Synthesis; segunda edición, 1991, Nueva York, John Wiley & sons, Inc, y los documentos citados en ese documento). Las composiciones de péptido de la presente divulgación también pueden incluir aminoácidos modificados.

Los aminoácidos no naturales útiles para la optimización de péptidos inhibidores de calicreína incluyen, pero no se limitan a, homolisina, homoarginina, homoserina, ácido 2-aminoadípico, ácido 3-aminoadípico, beta-alanina, ácido aminopropiónico, ácido 2-aminobutírico, 4-aminobutírico, ácido 6-aminocaproico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 3-aminoisobutírico, ácido 2-aminopimélico, ácido 2,4-diaminoisobutírico, desmosina, ácido 2,2'-diaminopimélico, ácido 2,3-diaminopropiónico, N-etilglicina, N-etilasparagina, homoprolina, hidroxilisina, alo-hidroxilisina, 3-hidroxiprolina, 4-hidroxiprolina, isodesmosina, alo-isoleucina, N-metilpentilglicina, naftilalanina, ornitina, pentilglicina, tioprolina, norvalina, terc-butilglicina, fenilglicina, 7-azatriptófano, 4-fluorofenilalanina, penicilamina, sarcosina, homocisteína, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahydro-2H-piran-4-carboxílico, ácido aminoisobutérico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, η-ω-metil-arginina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, 4-cloro-homofenilalanina, homofenilalanina, 4-aminometil-fenilalanina, 3-aminometil-fenilalanina, octilglicina, norleucina, ácido tranexámico, ácido 2-aminopentanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminoheptanoico, ácido 2-aminooctanoico, ácido 2-aminononanoico, ácido 2-aminodecanoico, ácido 2-aminoundecanoico, ácido 2-aminododecanoico, ácido aminoalélico y ácido 2-(2-aminoetoxi)acético, ácido pipercolico, 2-carboxi-azetidina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina, 4-isopropil-fenilglicina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina y (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico y los estereoisómeros D y L de los mismos.

Los residuos de aminoácido modificados útiles para la optimización de péptidos inhibidores de calicreína incluyen, pero no se limitan a aquellos que se bloquean químicamente, de manera reversible o irreversible, o modificados químicamente en su grupo amino N-terminal o sus grupos de cadena lateral, como por ejemplo, D y L-aminoácidos o residuos naturales o no naturales N-metilados en los que se modifican químicamente los grupos funcionales de cadena lateral a otro grupo funcional. Por ejemplo, los aminoácidos modificados incluyen, sin limitación, sulfóxido de metionina; sulfona de metionina; (éster beta-metílico) de ácido aspártico, un aminoácido modificado de ácido aspártico; N-

etilglicina, un aminoácido modificado de glicina; o carboxamida de alanina, y un aminoácido modificado de alanina. Los aminoácidos no naturales pueden adquirirse de Sigma Aldrich u otro proveedor. Los aminoácidos no naturales pueden incluir además cualquiera de los enumerados en la tabla 2 de la publicación de patente estadounidense US 2011/0172126.

Las secuencias de aminoácidos de los péptidos de la divulgación pueden comprender sólo aminoácidos que se producen de manera natural y, como tales, pueden considerarse que son péptidos, polipéptidos o fragmentos de los mismos. Alternativamente, los péptidos pueden comprender aminoácidos que se producen de manera tanto natural como no natural o modificados, o componerse exclusivamente de aminoácidos que se producen de manera no natural. Según la presente divulgación, las composiciones identificadas pueden ser "peptidomiméticos", "miméticos de péptidos", "péptidos", "polipéptidos" o "proteínas". Aunque se sabe en la técnica que estos términos implican un tamaño relativo, estos términos, tal como se usan en el presente documento, no deben considerarse limitativos con respecto al tamaño de las diversas moléculas basadas en polipéptidos a las que se hace referencia en el presente documento y que están abarcadas en esta divulgación, a menos que se indique de otro modo.

Según la presente divulgación, cualquier molécula basada en aminoácidos puede denominarse un "polipéptido" y este término abarca tanto "péptidos" como "proteínas". Los péptidos también son una categoría de proteínas y tradicionalmente se considera que varían en tamaño desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 50 aminoácidos. Los dipéptidos, aquellos que tienen dos residuos de aminoácido, son una categoría de péptidos al igual que los tripéptidos (3 aminoácidos). Los polipéptidos que tienen más de aproximadamente 50 aminoácidos se denominan generalmente "proteínas". Las secuencias de péptidos, polipéptidos y/o proteínas pueden ser lineales o cíclicas. Por ejemplo, puede prepararse un péptido cíclico o puede resultar de la formación de puentes disulfuro entre dos residuos de cisteína en una secuencia. Puede unirse un péptido a través del extremo carboxilo-terminal, el extremo amino-terminal o a través de cualquier otro punto de unión conveniente tal como, por ejemplo, a través del azufre de una cisteína o cualquier cadena lateral de un residuo de aminoácido u otra unión incluyendo, pero sin limitarse a, una unión maleimida, una unión amida, una unión éster, una unión éter, una unión tiol éter, una unión hidrazona o una unión acetamida.

El término "variante de secuencia de aminoácidos" se refiere a moléculas con algunas diferencias en sus secuencias de aminoácidos en comparación con una secuencia nativa. Las variantes de secuencia de aminoácidos pueden tener sustituciones, deleciones y/o inserciones en determinadas posiciones dentro de la secuencia de aminoácidos. Habitualmente, las variantes tendrán una homología de al menos aproximadamente el 70% con una secuencia nativa o de partida, y preferiblemente, tendrán una homología de al menos aproximadamente el 80%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 90% con una secuencia nativa o de partida.

La "homología", tal como se aplica a las secuencias de aminoácidos, se define como el porcentaje de residuos en la secuencia de aminoácidos candidata que son idénticos a los residuos en la secuencia de aminoácidos de una segunda secuencia después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de homología. Los métodos y programas informáticos para la alineación se conocen bien en la técnica. Se entiende que la homología depende de un cálculo del porcentaje de identidad pero puede diferir en su valor debido a los huecos y las penalizaciones introducidos en el cálculo.

Por "homólogos", tal como se aplica a las secuencias de aminoácidos, se entiende la secuencia correspondiente de otra especie que tiene identidad sustancial con una segunda secuencia de una segunda especie.

"Análogos" pretende incluir variantes de polipéptido que difieren en una o más alteraciones de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones, adiciones o deleciones de residuos de aminoácido que todavía mantienen una o más de las propiedades del polipéptido original o de partida.

La presente divulgación contempla varios tipos de composición que se basan en aminoácidos, incluidas variantes y derivados. Estos incluyen variantes y derivados de sustitución, de inserción, de delección y covalentes. El término "derivado" se usa como sinónimo del término "variante" y se refiere a una molécula que se ha modificado o cambiado de alguna manera en relación con una molécula de referencia o molécula de partida.

Como tal, se incluyen dentro de esta divulgación las moléculas basadas en polipéptidos que contienen sustituciones, inserciones y/o adiciones, deleciones y modificaciones covalentes. Por ejemplo, pueden añadirse etiquetas de secuencia o aminoácidos, tales como una o más lisinas, a las secuencias peptídicas de la divulgación (por ejemplo, en los extremos N-terminal o C-terminal). Las etiquetas de secuencia pueden usarse para la purificación o localización de péptidos. Pueden usarse lisinas para aumentar la solubilidad del péptido o para permitir modificaciones específicas del sitio, tales como, pero sin limitarse a, biotilación o pegilación. Alternativamente, los residuos de aminoácido ubicados en las regiones carboxilo y amino-terminales de la secuencia de aminoácidos de un péptido o una proteína pueden deleccionarse opcionalmente proporcionando secuencias truncadas. Ciertos aminoácidos (por ejemplo, residuos C-terminales o N-terminales) pueden deleccionarse alternativamente dependiendo del uso de la secuencia, como por ejemplo, la expresión de la secuencia como parte de una secuencia más grande, que es soluble o está unida a un soporte sólido.

Las “variantes de sustitución” cuando hacen referencia a polipéptidos son aquellas que tienen al menos un residuo de aminoácido en una secuencia nativa o de partida eliminada y un aminoácido diferente insertado en su lugar en la misma posición. Las sustituciones pueden ser únicas, en las que sólo se ha sustituido un aminoácido en la molécula, o pueden ser múltiples, en las que se han sustituido dos o más aminoácidos en la misma molécula.

Tal como se usa en el presente documento, el término “sustitución de aminoácidos conservativa” se refiere a la sustitución de un aminoácido que está presente normalmente en la secuencia por un aminoácido diferente de tamaño, carga o polaridad similares. Los ejemplos de sustituciones conservativas incluyen la sustitución de un residuo apolar (hidrófobo) tal como isoleucina, valina y leucina por otro residuo apolar. Del mismo modo, los ejemplos de sustituciones conservativas incluyen la sustitución de un residuo polar (hidrófilo) por otro, tal como entre arginina y lisina, entre glutamina y asparagina, y entre glicina y serina. Además, la sustitución de un residuo básico tal como lisina, arginina o histidina por otro, o la sustitución de un residuo ácido tal como ácido aspártico o ácido glutámico por otro residuo ácido son ejemplos adicionales de sustituciones conservativas. Los ejemplos de sustituciones no conservativas incluyen la sustitución de un residuo de aminoácido apolar (hidrófobo) tal como isoleucina, valina, leucina, alanina, metionina por un residuo polar (hidrófilo) tal como cisteína, glutamina, ácido glutámico o lisina y/o un residuo polar por un residuo apolar.

Los “isósteros” son una de dos o más moléculas que muestran cierta similitud de propiedades biológicas como resultado de tener el mismo número de electrones totales o de valencia en la misma disposición y que consisten en átomos diferentes, no necesariamente el mismo número de átomos. Hay dos clases de isósteros, clásico y no clásico. Los isósteros clásicos tienen el mismo número de átomos y/o el mismo número de electrones de valencia, mientras que los isósteros no clásicos son moléculas que producen un efecto biológico similar *in vivo* pero no tienen el mismo número de átomos y/o electrones de valencia.

Según la presente divulgación, los “isósteros de péptidos” se definen como isósteros que tienen propiedades que se asemejan a los péptidos. Los isósteros de péptidos pueden ser de un tipo lineal que comprende al menos un reemplazo de enlace peptídico o pueden ser cíclicos y comprender una función amina y una ácido carboxílico. Tal reemplazo puede ser por cualquier resto que mejore las propiedades fisicoquímicas, estructurales o funcionales de la molécula. El reemplazo de enlace peptídico puede aumentar la estabilidad metabólica de los péptidos y reducir la flexibilidad. Los isósteros de péptidos descritos en el presente documento pueden ser isósteros de mono, di, tri, tetra, penta, sexta, septa, octa, nona, decapeptido, lo que significa que pueden reemplazarse al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 enlaces peptídicos. Los ejemplos no limitativos de isósteros de dipéptidos lineales para enlaces amida (peptídicos) incluyen tioamida, sulfonamida, sulfonato, fosfonamida, fosfonato, fosfotioato, fosfinato, alcanos, 1 ó 2-hidroxietileno, dihidroxietileno, enlace sencillo C-C (alcano), doble enlace C-C (alqueno), triple enlace CC (alquino), enlace C-O (metilenoalquilo), enlace O-N o N-O, (metilenoamino), triazol, hidrazida, urea, cetona, enlace uretano, (di)haloalqueno, metilenoalquilo, metilenoamino, trifluoroetilamino, hidrazida, amidoxilo, y otros conocidos por los expertos en la técnica.

Los isósteros de péptidos también pueden ser moléculas cíclicas que están decoradas con una función amina y una ácido carboxílico. Los ejemplos no limitativos de isósteros de péptidos cíclicos con tamaños de anillo variables incluyen carbociclos, azaciclos y oxaciclos. Los azaciclos pueden basarse en un núcleo de alcaloide que forma un isótero de estructura bicíclica. Un ejemplo de un isótero azacíclico incluye un isótero basado en un anillo de triazol formado por una cicloadición de azida-alquino catalizada por cobre. Los isósteros de péptidos cíclicos descritos en el presente documento pueden ser isósteros cíclicos de péptidos bi, tri, tetra, penta, sexta, septa, octa, nona, decapeptidos.

Las “variantes de inserción” cuando hacen referencia a polipéptidos son aquellas con uno o más aminoácidos insertados inmediatamente adyacentes a un aminoácido en una posición particular en una secuencia nativa o de partida. “Inmediatamente adyacente” a un aminoácido significa conectado o bien al grupo funcional alfa-carboxilo o bien al alfa-amino del aminoácido.

Las “variantes de delección” cuando hacen referencia a polipéptidos son aquellas con uno o más aminoácidos eliminados en la secuencia de aminoácidos nativa o de partida. Normalmente, las variantes de delección tendrán uno o más aminoácidos delecionados en una región particular de la molécula.

Las “características” cuando hacen referencia a polipéptidos se definen como componentes de una molécula basados en secuencias de aminoácidos distintos. Las características del polipéptido de la presente divulgación incluyen manifestaciones de superficie, forma conformacional local, pliegues, bucles, semibucles, dominios, semidominios, sitios, extremos terminales o cualquier combinación de los mismos.

Tal como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a polipéptidos, el término “sitio” en lo que se refiere a realizaciones basadas en aminoácidos, se usa como sinónimo de “residuo de aminoácido” y “cadena lateral de aminoácido”. Un sitio representa una posición dentro de un péptido o polipéptido que puede modificarse, manipularse, alterarse, derivatizarse o variarse dentro de las moléculas basadas en polipéptidos de la presente divulgación.

Según la presente divulgación, los polipéptidos pueden comprender una secuencia consenso, que se descubre a

través de tandas de selección. Tal como se usa en el presente documento, una secuencia “consenso” es una única secuencia que representa una población colectiva de secuencias que permite la variabilidad en uno o más sitios.

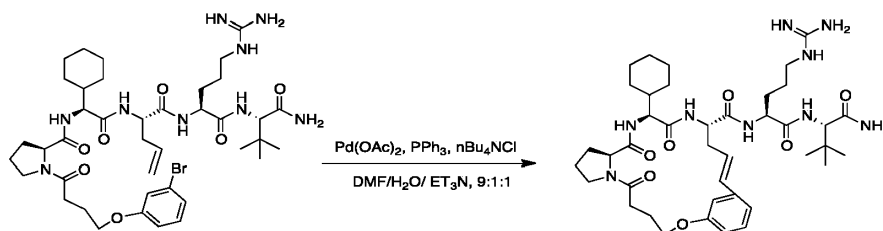
Compuestos inhibidores obtenidos por procedimientos de ciclación alternativos

Los inhibidores de caliceína plasmática pueden sintetizarse según una o más de las reacciones químicas descritas en las secciones A, B y C de esta sección.

A. Reacción de Heck

Tal como se usa en el presente documento, el término “reacción de Heck” se refiere a una reacción química en la que un haluro insaturado (incluyendo, pero sin limitarse a un bromuro) reacciona con un grupo alqueno así como una base en presencia de un catalizador que comprende paladio, lo que da como resultado la formación de un alqueno sustituido (Mizoroki, T. *et al.*, Arylation of olefin with aryl iodide catalyzed by palladium. Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1971. 44(2):p581). Para la síntesis de peptidomiméticos mediante la reacción de Heck, puede tratarse una resina que contiene péptido con un tampón de reacción que puede comprender DMF/H₂O/Et₃N, Pd(OAc)₂, PPh₃, (nBu)₄NCl en una porción. La suspensión resultante puede agitarse durante la noche a 37°C. Después de este tiempo, la resina puede lavarse. Tal lavado puede realizarse secuencialmente con DMF, MeOH, DCM y secarse bajo un flujo de gas nitrógeno. Los péptidos resultantes pueden escindirse de la resina con TFA/H₂O (97:3) y purificarse mediante métodos conocidos en la técnica (incluyendo, pero sin limitarse a, HPLC de fase inversa). Un ejemplo de una de tales reacciones se presenta en el esquema 1.

Esquema 1

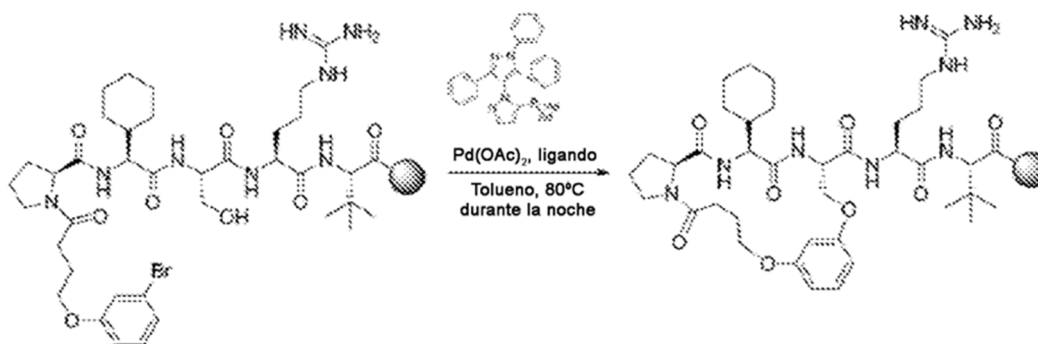


En algunas realizaciones, el doble enlace formado en la reacción está en la formación estereoquímica S. En algunas realizaciones, el doble enlace formado en la reacción está en la formación estereoquímica R.

B. Reacción de Buchwald

Tal como se usa en el presente documento, el término “reacción de Buchwald” se refiere a una reacción química llevada a cabo durante la noche a una temperatura seleccionada entre 50°C y 150°C en la que un haluro (incluyendo, pero sin limitarse a, un bromuro) se hace reaccionar con un grupo químico que comprende oxígeno en presencia de tolueno y un catalizador que comprende paladio. Un ejemplo de una de tales reacciones se presenta en el esquema 2.

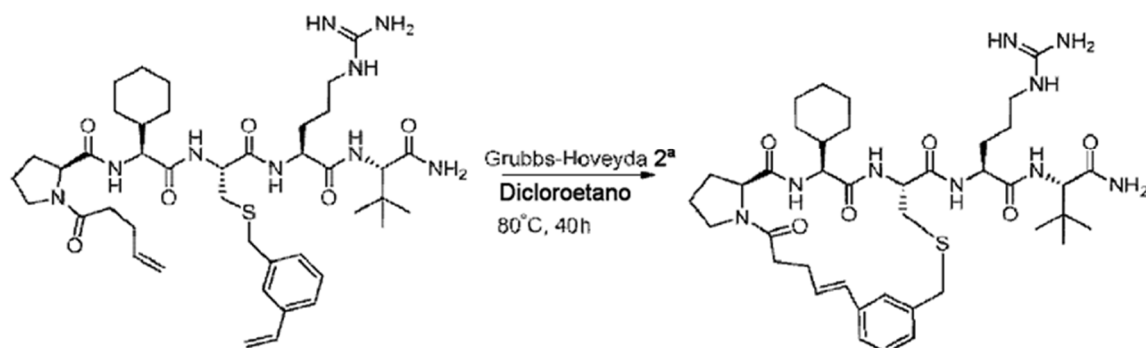
Esquema 2



C. Metátesis de olefinas

Tal como se usa en el presente documento, el término “metátesis de olefinas” se refiere a una reacción química que comprende la redistribución de alquenos a través de la ruptura y nueva formación de dobles enlaces carbono-carbono. Un ejemplo de una de tales reacciones se presenta en el esquema 3.

Esquema 3



- 5 En algunas realizaciones, el doble enlace formado en la reacción está en la formación estereoquímica S. En algunas realizaciones, el doble enlace formado en la reacción está en la formación estereoquímica R.

Conjugados y combinaciones

- 10 Según la presente divulgación, los polipéptidos pueden modificarse mediante la adición de uno o más grupos conjugados. Los péptidos también pueden administrarse en combinación con una o más moléculas adicionales.

Tal como se usa en el presente documento, un “conjugado” se refiere a cualquier molécula o resto unido a otra molécula. En la presente divulgación, los conjugados pueden estar basados en proteínas (aminoácidos) o no. Los conjugados pueden comprender lípidos, moléculas pequeñas, ARN, ADN, proteínas, polímeros, o combinaciones de los mismos. Funcionalmente, los conjugados pueden servir como moléculas de selección como diana o pueden servir como carga útil para administrarse a una célula, un órgano o tejido. Los conjugados son normalmente modificaciones covalentes introducidas haciendo reaccionar residuos de aminoácido específicos o los extremos terminales del polipéptido con un agente de derivatización orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales o residuos terminales seleccionados. Tales modificaciones están dentro de la experiencia habitual en la técnica y se realizan sin experimentación indebida.

Las modificaciones covalentes incluyen específicamente moléculas en las que las proteínas, los péptidos o polipéptidos de la divulgación se unen a un polímero no proteínico. El polímero no proteínico habitualmente es un polímero sintético hidrófilo, es decir, un polímero que no se encuentra de otro modo en la naturaleza. Sin embargo, los polímeros que existen en la naturaleza y se producen mediante métodos recombinantes o *in vitro* son útiles, como lo son los polímeros que se aíslan de la naturaleza. Los polímeros de polivinilo hidrófilos se encuentran dentro de esta divulgación, por ejemplo, poli(alcohol vinílico) y polivinilpirrolidona. Las proteínas, los péptidos o polipéptidos pueden unirse a diversos polímeros no proteínicos, tales como polietilenglicol, polipropilenglicol, polioxiálquilenos, de la manera expuesta en las patentes estadounidenses n.ºs 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 ó 4.179.337.

Tal como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a polipéptidos, el término “sitio” en lo que se refiere a realizaciones basadas en aminoácidos se usa como sinónimo de “residuo de aminoácido” y “cadena lateral de aminoácido”. Un sitio representa una posición dentro de un péptido o polipéptido que puede modificarse, manipularse, alterarse, derivatizarse o variarse dentro de las moléculas basadas en polipéptidos de la presente divulgación.

Tal como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a polipéptidos, el término “bucle” se refiere a una característica estructural de un polipéptido que puede servir para invertir el sentido de la estructura principal de un péptido o polipéptido. Cuando el bucle se encuentra en un polipéptido y sólo altera el sentido de la estructura principal, puede comprender cuatro o más residuos de aminoácido. Oliva *et al.* han identificado al menos 5 clases de bucles de proteína (J. Mol Biol 266 (4):814-830; 1997). Los bucles pueden ser abiertos o cerrados. Los bucles cerrados o bucles “cíclicos” pueden comprender 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 aminoácidos o más entre los restos de formación de puente. Tales restos de formación de puente pueden comprender un puente cisteína-cisteína (Cys-Cys) típico en polipéptidos que tienen puentes disulfuro o, alternativamente, los restos de formación de puente pueden no estar basados en proteína, tales como los agentes de dibromoxililo usados en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “extremos terminales o extremo terminal” cuando hacen referencia a polipéptidos se refieren a una extremidad de un péptido o polipéptido. Tal extremidad no se limita sólo al primer o último sitio del péptido o polipéptido, sino que puede incluir aminoácidos adicionales en las regiones terminales. Las moléculas basadas en polipéptidos de la presente divulgación pueden caracterizarse por tener un

extremo N-terminal (terminado por un aminoácido con un grupo amino libre (NH₂)) y un extremo C-terminal (terminado por un aminoácido con un grupo carboxilo libre (COOH)). Las proteínas de la divulgación están compuestas en algunos casos por múltiples cadenas de polipéptido unidas por enlaces disulfuro o por fuerzas no covalentes (multímeros, oligómeros). Estas clases de proteínas tendrán múltiples extremos N y C-terminales. Alternativamente, los extremos terminales de los polipéptidos pueden modificarse de tal manera que comiencen o terminen, según sea el caso, con un resto no basado en polipéptidos tal como un conjugado orgánico.

En una realización, las moléculas basadas en polipéptidos de la presente divulgación pueden incluir una región terminal. Tal como se usa en el presente documento, "región terminal" es una región terminal de aminoácidos que puede incluir una cisteína. La región terminal puede ser una región N y/o C-terminal. La región terminal puede conectarse al polipéptido original usando un grupo de unión. Tal como se usa en el presente documento, "polipéptido original" se refiere al polipéptido que no incluye la región terminal. La región terminal puede estar separada del polipéptido original por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más. Los residuos añadidos pueden seleccionarse de, pero sin limitarse a, cualquier aminoácido natural o no natural, la forma N-metilada de cualquier aminoácido natural o no natural, el estereoisómero D de cualquier aminoácido natural o no natural, norvalina, terc-butilglicina, fenilglicina, 7-azatriptófano, 4-fluorofenilalanina, penicilamina, sarcosina, homocisteína, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahidro-2H-piran-4-carboxílico, ácido aminoisobutérico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, η - ω -metil-arginina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, citrulina, 4-cloro-homofenilalanina, homofenilalanina, 4-aminometil-fenilalanina, 3-aminometil-fenilalanina, octilglicina, norleucina, ácido tranexámico, ácido 2-aminopentanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminooctanoico, ácido 2-aminononanoico, ácido 2-aminodecanoico, ácido 2-aminoundecanoico, ácido 2-aminododecanoico, ácido aminovalérico y ácido 2-(2-aminoetoxi)acético, ácido pipercolico, 2-carboxi-azetidina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina, 4-isopropil-fenilglicina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina y (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico.

En una realización, las moléculas basadas en polipéptidos pueden incluir una modificación terminal. La modificación puede ser en los extremos N y/o C-terminales y puede incluir, pero sin limitarse a, la adición de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más en la región terminal. Los residuos añadidos pueden seleccionarse de, pero sin limitarse a, cualquier aminoácido natural o no natural, la forma N-metilada de cualquier aminoácido natural o no natural, el estereoisómero D de cualquier aminoácido natural o no natural, norvalina, terc-butilglicina, fenilglicina, 7-azatriptófano, 4-fluorofenilalanina, penicilamina, sarcosina, homocisteína, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahidro-2H-piran-4-carboxílico, ácido aminoisobutérico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, η - ω -metil-arginina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, 4-cloro-homofenilalanina, homofenilalanina, 4-aminometil-fenilalanina, 3-aminometil-fenilalanina, octilglicina, norleucina, ácido tranexámico, ácido 2-aminopentanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminohexanoico, ácido 2-aminooctanoico, ácido 2-aminononanoico, ácido 2-aminodecanoico, ácido 2-aminoundecanoico, ácido 2-aminododecanoico, ácido aminovalérico y ácido 2-(2-aminoetoxi)acético, ácido pipercolico, 2-carboxi-azetidina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina, 4-isopropil-fenilglicina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina y (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico y ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico.

En una realización, las moléculas basadas en polipéptidos pueden incluir una modificación terminal en los extremos N o C-terminales con la adición de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más y una cisteína en la región terminal.

Una vez que se ha identificado o definido cualquiera de las características como componente de una molécula de la divulgación, cualquiera de varias manipulaciones y/o modificaciones de estas características puede realizarse mediante movimiento, intercambio, inversión, delección, aleatorización o duplicación. Además, se entiende que la manipulación de características puede dar como lugar al mismo resultado que una modificación de las moléculas de la divulgación. Por ejemplo, una manipulación que implicó deleccionar un dominio daría como resultado la alteración de la longitud de una molécula tal como lo haría la modificación de un ácido nucleico para codificar para menos que una molécula de longitud completa.

Las modificaciones y manipulaciones pueden lograrse mediante métodos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio. Las moléculas modificadas resultantes pueden someterse a prueba entonces para determinar la actividad usando ensayos *in vitro* o *in vivo* tales como los descritos en el presente documento o cualquier otro ensayo de cribado adecuado conocido en la técnica.

Según la presente divulgación, los polipéptidos pueden comprender una secuencia consenso que se descubre a través de tandas de selección. En una realización, la secuencia consenso puede comprender Cys-(X₁X₂X₃-) Cys-Arg-Val-R, en la que las cisteínas se unen entre sí mediante un resto de formación de puente y -(X₁X₂X₃-) representan una región de bucle de aminoácidos entre las cisteínas y en la que R representa cero, uno o más aminoácidos.

El proceso de conjugación puede implicar pegilación, lipidación, albuminación, la adición de otras colas de proteínas o injerto sobre dominios Fc de anticuerpos, regiones CDR de anticuerpos intactos o dominios de anticuerpos producidos mediante cualquier número de medios. El conjugado puede incluir anclajes incluyendo el resto de oleato de colesterol, el resto de laurato de colesterilo, un resto de α -tocoferol, un resto de fitol, un resto de oleato o un resto de éster de colesterol insaturado o un compuesto lipófilo seleccionado de acetanilidas, anilidas, aminoquinolinas, compuestos de benzhidrilo, benzodiazepinas, benzofuranos, cannabinoides, péptidos cíclicos, dibenzazepinas, glicósidos digitálicos, alcaloides del cornezuelo, flavonoides, imidazoles, quinolinas, macrólidos, naftalenos, opiáceos (tales como, pero no limitados a, morfina y otros fármacos psicoactivos), oxazinas, oxazoles, fenilalquilaminas, piperidinas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, pirrolidinas, pirrolidinonas, estilbenos, sulfonilureas, sulfonas, triazoles, tropanos y alcaloides de vinca. Los péptidos de la presente divulgación pueden conjugarse con cualquiera de los conjugados peptídicos enseñados, por ejemplo, en las publicaciones de patente estadounidense US20110172126 o US20030040472.

Vías de administración

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación pueden administrarse por cualquier vía que dé como resultado un resultado terapéuticamente eficaz. Estas incluyen, pero no se limitan a administración enteral, gastroenteral, epidural, oral, peridural, intracerebral (en el cerebro), intratraqueal (en las vías respiratorias para la administración al pulmón), intracerebroventricular (en los ventrículos cerebrales), epicutánea (aplicación sobre la piel), intradérmica (en la propia piel), subcutánea (debajo de la piel), nasal (a través de la nariz), infusión intravenosa (en una vena), intraarterial (en una arteria), intramuscular (en un músculo), intracardiaca (en el corazón), intraósea (en la médula ósea), infusión intratecal (en el conducto raquídeo), intraperitoneal (infusión o inyección en el peritoneo), intravesical, inyección intravítrea, (en la cámara posterior del ojo), intracavernosa, (en la base del pene), administración intravaginal, administración intrauterina, extraamniótica, transdérmica (difusión a través de la piel intacta para distribución sistémica), transmucosa (difusión a través de una membrana mucosa), insuflación (inhalación), bucal, sublingual, sublabial, enema, colirios (sobre la conjuntiva) o en gotas para los oídos.

Formulación y administración de péptidos cíclicos.

El término "formulación farmacéutica" se refiere a una composición que comprende al menos un principio activo (por ejemplo, un péptido) en una forma y cantidad que permiten que el principio activo sea terapéuticamente eficaz.

Las formulaciones de péptidos de la presente divulgación incluyen formulaciones de liberación duodenal controlada, formulaciones de liberación programada, sistemas de administración de liberación controlada por ósmosis, microemulsiones, microesferas, liposomas, nanopartículas, parches, bombas, depósitos de fármacos, y similares. Se incluyen específicamente en la presente divulgación formas de dosificación oral sólidas, tales como polvos, cápsulas blandas, cápsulas de gelatina, cápsulas, píldoras y comprimidos.

En una realización, el péptido se formula como una disolución acuosa estéril. En una realización, el péptido se formula en una formulación no lipídica. En otra realización, el péptido se formula en una formulación lipídica catiónica o no catiónica. En cualquier realización, la disolución acuosa estéril puede contener componentes activos o inactivos adicionales. Los componentes inactivos ("excipientes") pueden incluir, pero sin limitarse a, sales, azúcares, agentes de carga, tensioactivos o tampones fisiológicamente compatibles.

Los péptidos o las composiciones de péptido de la presente divulgación pueden comprender o formularse o administrarse junto con uno o más agentes portadores. El agente portador puede ser una sustancia que se produce de manera natural, tal como una proteína (por ejemplo, albúmina sérica humana (HSA), lipoproteína de baja densidad (LDL) o globulina); un hidrato de carbono (por ejemplo, un dextrano, pululano, quitina, quitosano, inulina, ciclodextrina o ácido hialurónico); o lípido. La molécula portadora también puede ser una molécula recombinante o sintética, tal como un polímero sintético, por ejemplo, un poliaminoácido sintético. Los ejemplos de poliaminoácidos incluyen polilisina (PLL), poli(ácido L-aspartico), poli(ácido L-glutámico), copolímero de poli(L-lactida-co-glicolida), polietilenglicol (PEG), poli(alcohol vinílico) (PVA), poli(ácido 2-etilacrilico) y polímeros de N-isopropilacrilamida. Pueden identificarse otras moléculas portadoras útiles mediante métodos de rutina. Los conjugados de PEG pueden variar en tamaño (por ejemplo, 5.000 kD (5K), 10.000 kD (10K), 20.000 kD (20K), 40.000 kD (40K), etc.).

En una realización, la composición farmacéutica comprende el principio activo peptídico junto con etanol, mono-diglicéridos de aceite de maíz, aceite de ricino hidrogenado, DL-tocoferol, propilenglicol, gelatina, glicerol, colorantes, aromas y edulcorantes.

5 En otra realización, la composición farmacéutica comprende el principio activo peptídico junto con un agente de administración tal como ácido 4-(2-hidroxi-4-metoxibenzamido)butanoico (o cualquiera de los agentes de administración descritos en la patente estadounidense número 7.744.910B2), un tampón farmacéuticamente aceptable, un disgregante, hidroxipropilmetilcelulosa, colorantes, aromas y edulcorantes.

10 En otra realización, la composición farmacéutica comprende una mezcla del principio activo junto con etanol, fosfatidilcolina de soja, diolato de glicerol, que se inyecta en un exceso de solución salina tal como se describe en la solicitud de patente estadounidense 2008/0146490A1.

15 La administración de uno o más péptidos o péptidos cíclicos a un sujeto que lo necesita puede lograrse de varias maneras diferentes. La administración *in vivo* puede realizarse directamente administrando una composición que comprende un péptido cíclico a un sujeto. Alternativamente, la administración puede realizarse indirectamente administrando uno o más vectores que codifican y dirigen la expresión del péptido cíclico.

20 La administración local evita la permeabilidad intestinal y la exposición sistémica. Por ejemplo, los péptidos de la presente divulgación pueden usarse en el ojo como gotas o en la sección posterior del ojo mediante inyección directa. Pueden aplicarse en el intestino para seleccionar como diana enzimas. Pueden usarse de manera tópica en aplicaciones dermatológicas (por ejemplo, cremas, pomadas, parches transdérmicos) o aplicaciones oculares (por ejemplo, colirios).

25 Los péptidos o las composiciones de péptido de la presente divulgación pueden comprender o formularse con uno o más agentes fusogénicos. Un agente fusogénico de una composición descrita en el presente documento puede ser un agente que responde a, por ejemplo, cambia la carga según el entorno de pH. Al encontrarse con el pH de un endosoma, puede provocar un cambio físico, por ejemplo, un cambio en las propiedades osmóticas que altera o aumenta la permeabilidad de la membrana del endosoma. Preferiblemente, el agente fusogénico cambia la carga, por ejemplo, se protona, a un pH menor que el intervalo fisiológico. Por ejemplo, el agente fusogénico puede protonarse a pH 4,5-6,5. El agente fusogénico puede servir para liberar el polipéptido en el citoplasma de una célula después de que se capta la composición, por ejemplo, a través de endocitosis, por la célula, aumentando de ese modo la concentración celular del péptido en la célula.

35 En una realización, el agente fusogénico puede tener un resto, por ejemplo un grupo amino, que cuando se expone a un intervalo de pH especificado experimentará un cambio, por ejemplo, en la carga, por ejemplo protonación. El cambio en la carga del agente fusogénico puede desencadenar un cambio, por ejemplo un cambio osmótico, en una vesícula, por ejemplo una vesícula endocítica, por ejemplo un endosoma. Por ejemplo, el agente fusogénico, al exponerse al entorno de pH de un endosoma, provocará un cambio de solubilidad u osmótico lo suficientemente sustancial como para aumentar la porosidad (preferiblemente, hasta la rotura) de la membrana endosómica.

40 El agente fusogénico puede ser un polímero, preferiblemente una cadena de poliamino, por ejemplo, polietilenimina (PEI). La PEI puede ser lineal, ramificada, sintética o natural. La PEI puede ser, por ejemplo, PEI sustituida con alquilo o PEI sustituida con lípidos.

45 En otras realizaciones, el agente fusogénico puede ser polihistidina, poliimidazol, polipiridina, polipropilenimina, melitina o una sustancia de poliacetal, por ejemplo, un poliacetal catiónico. En alguna realización, el agente fusogénico puede tener una estructura de hélice alfa. El agente fusogénico puede ser un agente disruptivo de membrana, por ejemplo melitina.

50 Un experto en la técnica puede someter a prueba e identificar otros agentes fusogénicos adecuados.

Las composiciones de péptido de la presente divulgación pueden comprender o formularse con uno o más agentes de condensación. El agente de condensación de una composición descrita en el presente documento puede interaccionar con (por ejemplo, atrae, retiene o se une a) un péptido y actuar para (a) condensar, por ejemplo, reducir el tamaño o la carga del péptido y/o (b) proteger el péptido, por ejemplo, proteger el péptido frente a la degradación. El agente de condensación puede incluir un resto, por ejemplo, un resto cargado, que puede interaccionar con un péptido mediante interacciones iónicas. El agente de condensación será preferiblemente un polímero cargado, por ejemplo, una cadena policationica. El agente de condensación puede ser una polilisina (PLL), espermina, espermidina, poliamina, pseudopéptido-poliamina, poliamina peptidomimética, poliamina dendrímica, arginina, amidina, protamina, lípido catiónico, porfirina catiónica, sal cuaternaria de una poliaptina o un péptido de hélice alfa.

En una realización, las composiciones de péptido de la presente divulgación pueden formularse como péptidos bicíclicos. Como ejemplo no limitativo, los inhibidores de péptidos bicíclicos de calicreína pueden producirse en bibliotecas combinatorias (véase, por ejemplo, Baeriswyl *et al.*, "Bicyclic Peptides with Optimized Ring Size Inhibit Human Plasma Kallikrein and its Orthologues While Sparing Paralogous Proteases", ChemMedChem, 2012.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cmde.201200071/abstract>). Los péptidos bicíclicos pueden tener 2, 3, 4, 5, 6 aminoácidos o más por bucle.

Inhibidores de caliceína

En una realización, los péptidos cíclicos se unen y/o inhiben la actividad de caliceína plasmática. Los inhibidores de caliceína plasmática pueden encontrar utilidad en la eliminación o reducción de diversas isquemias, incluyendo pero sin limitarse a, pérdida de sangre perioperatoria, isquemia cerebral, el inicio de respuesta inflamatoria sistémica (RIS) y/o lesión por reperfusión, por ejemplo, lesión por reperfusión asociada con isquemia cerebral o una isquemia cerebral focal. Determinados inhibidores de caliceína plasmática se conocen en la técnica y se enseñan en las patentes estadounidenses n.ºs 6.333.402 y 6.057.287.

Los inhibidores de caliceína plasmática también pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos seleccionados del grupo que consiste en artritis reumatoide, gota, enfermedad intestinal del intestino, mucositis oral, dolor neuropático, dolor inflamatorio, estenosis espinal, enfermedad degenerativa de la columna vertebral, trombosis arterial o venosa, íleo posoperatorios, aneurisma aórtico, osteoartritis, vasculitis, edemas (incluyendo, pero sin limitarse a, edema macular diabético, edema cerebral, edema intracerebral y edema inducido por radiación), hemorragia, embolia pulmonar, accidente cerebrovascular, coagulación en dispositivos de asistencia ventricular o endoprótesis, traumatismo craneal o edema cerebral peritumoral, sepsis, acontecimiento isquémico (accidente cerebrovascular) agudo de la arteria cerebral media (ACM), reestenosis (por ejemplo, después de angioplastia), nefritis por lupus eritematoso sistémico, lesión por quemaduras, embolia, hemorragia intracerebral (HIC), inflamación, infarto agudo de miocardio (IM), trombosis venosa profunda (TVP), coagulaciones de estados tras tratamiento fibrinolítico (por ejemplo, activador de plasminógeno tisular y estreptocinasa), angioedema de angina, inflamación articular, lesiones en lipopolisacáridos (LPS) diabetes y sus complicaciones, y retinopatía.

Una deficiencia genética en la proteína inhibidora de C1 (INH C1), el principal inhibidor natural de caliceína plasmática, conduce a angioedema hereditario (AEH). Los pacientes con AEH experimentan ataques agudos de edema doloroso a menudo precipitados por desencadenantes desconocidos (Zuraw B. L. *et al.*, N Engl J Med 359, 1027-1036, 2008). Los inhibidores divulgados en el presente documento son particularmente útiles en el tratamiento de AEH o bien agudo o bien crónico.

Otros ejemplos de aplicaciones para los inhibidores de caliceína incluyen cirugía cardíaca pediátrica, trasplante de pulmón, artroplastia total de cadera y trasplante ortotópico de hígado, y para reducir o prevenir el accidente cerebrovascular perioperatorio durante IDAC y la oxigenación por membrana extracorporal (OMEC), y reducir o prevenir accidentes cerebrovasculares (ACV) durante estos procedimientos. Los inhibidores de caliceína también pueden usarse para accidente cerebrovascular, por ejemplo, accidente cerebrovascular asociado con embolia, trombos y/o hemorragia y para lesiones por reperfusión asociadas con accidente cerebrovascular.

Permeabilidad vascular y retinopatía diabética

Las enfermedades que se han asociado con un aumento de la permeabilidad vascular (por ejemplo, permeabilidad vascular de la retina) incluyen, pero no se limitan a, diabetes (por ejemplo, diabetes mellitus tipo 1 o tipo 2), hipertensión, resistencia a la insulina, cetoacidosis, traumatismo, infección e hiperglucemia, retinopatía diabética (por ejemplo, retinopatía proliferativa o no proliferativa), edema, angioedema hereditario (AEH), edema en el cerebro, incluyendo, pero sin limitarse a, edema cerebral (por ejemplo, edema de gran altura), hemorragia, hemorragia intracerebral, hemorragia subdural, hemorragia subaracnoidea, accidente cerebrovascular hemorrágico, transformación hemorrágica del accidente cerebrovascular isquémico, permeabilidad vascular asociada con hipertensión o inflamación, aumento de la permeabilidad vascular sistémica, por ejemplo, asociada con choque séptico, escorbuto, anafilaxia, angioedema hereditario o adquirido (habiéndose relacionado ambos con deficiencia de inhibidor de C1), aneurisma cerebral y anomalía arteriovenosa. El edema cerebral es un aumento del volumen cerebral provocado por un aumento absoluto del contenido de líquido del tejido cerebral; el edema cerebral vasogénico surge de un escape transvascular provocado por un fallo mecánico de las uniones estrechas endoteliales de la barrera hematoencefálica (BHE). En algunos casos, el edema cerebral puede estar provocado por una gran altura (por ejemplo, una transición rápida hasta al menos 8.000 pies (2438 m) sobre el nivel del mar).

La caliceína puede usarse como una diana terapéutica para personas con retinopatía diabética, ya que se ha demostrado que la caliceína contribuye a un aumento del escape de los vasos sanguíneos y al engrosamiento de la retina, que es una de las principales causas de retinopatía diabética. La retinopatía diabética se caracteriza por alteraciones progresivas y graduales en la microvasculatura retiniana que conducen a áreas de ausencia de perfusión retiniana, aumento de la permeabilidad vascular y proliferación intraocular patológica de vasos retinianos. Tal como se usa en el presente documento, "permeabilidad vascular" se refiere al paso de sustancias, incluidas moléculas, partículas y células, a través del endotelio vascular. Los trastornos asociados con edema y/o una permeabilidad vascular excesiva en el ojo, por ejemplo, en la retina o el cuerpo vítreo, incluyen, pero no se limitan a, degeneración macular asociada a la edad (DMAE), edema retiniano, hemorragia retiniana, hemorragia vítrea, edema macular (EM), edema macular diabético (EMD), retinopatía diabética proliferativa (RDP) y retinopatía diabética no proliferativa (RD), retinopatía por radiación, telangiectasia, retinopatía serosa central, oclusiones venosas retinianas (por ejemplo,

oclusiones venosas de rama o centrales), retinopatía por radiación, retinopatía de células falciformes, retinopatía del prematuro, enfermedad de Von Hippel-Lindau, uveítis posterior, desprendimiento de retina crónico, síndrome de Irvine-Gass, enfermedad de Eales, retinitis y coroiditis.

Los aumentos de la velocidad o cantidad de dicho paso (es decir, aumento de permeabilidad vascular) pueden ser indicativos de los estados patológicos descritos en el presente documento. Las complicaciones asociadas con el aumento de la permeabilidad vascular en la mácula (denominado edema macular) y la neovascularización descontrolada (denominada retinopatía diabética proliferativa) pueden dar como resultado una pérdida visual grave y permanente. La retinopatía diabética avanza de modo predecible a través de estadios claramente definibles. Se divide en dos amplias categorías, la retinopatía diabética no proliferativa (RDNP) y la retinopatía diabética proliferativa (RDP) y se subdivide por nivel de gravedad.

El edema macular diabético (EMD) es una causa importante de pérdida visual moderada y ceguera legal en personas con diabetes tipo 2 (Javitt *et al.*, Diabetes Care. 17:909-917 (1994)). Del 20 al 25% de los al menos 346 millones de diabéticos en todo el mundo desarrollarán EMD. El EMD puede producirse en cualquier nivel de RDNP o RDP. El EMD se desarrolla cuando una ruptura de la barrera hematorretiniana permite que se escapen líquido y otros componentes plasmáticos desde los vasos sanguíneos hacia la retina. La ruptura de la barrera hematorretiniana, que puede detectarse como un aumento de la permeabilidad vascular, puede observarse en la retina de diabéticos antes de que se vean otros cambios retinopáticos. Se ha demostrado que la activación de la precalicreína da como resultado un aumento de la permeabilidad vascular de la retina, en el que cuanto mayor es la permeabilidad vascular de la retina, mayores son las posibilidades de progresión de EMD y, en última instancia, la pérdida de visión.

Los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento pueden usarse para disminuir el escape de vasos sanguíneos y adelgazar la retina como método para tratar y/o prevenir la retinopatía diabética. Los inhibidores de calicreína pueden usarse en combinación con los tratamientos y las terapias actuales para EMD tales como, pero sin limitarse a, fotocoagulación con láser, fotocoagulación con láser e inyecciones de Lucentis, agentes anti-VEGF y terapia de implante y/o intravítrea con corticosteroides, implantes de esteroides intravítreos, combinaciones de fotocoagulación con láser con farmacoterapia, colirios que contienen un antagonista de molécula pequeña del receptor de bradiquinina B1, inyección intravítrea única de una composición farmacéutica que contiene un inhibidor de calicreína, y una composición farmacéutica oral que contiene un inhibidor de calicreína plasmática de molécula pequeña.

La administración tópica puede ser particularmente útil para tratar el EMD. En esta realización, el péptido puede inyectarse directamente en la cámara posterior (por vía intravítrea) del ojo. El péptido puede estar en un depósito o incrustado en una micropartícula o nanopartícula de polímero biodegradable. Los péptidos pueden usarse en combinación con terapias aprobadas para EMD y/o degeneración macular asociada a la edad húmeda, tal como Lucentis® (Roche-Genentech-Novartis) o Eylea™ (Regeneron-Bayer) para aumentar la eficacia de los productos aprobados.

En el AEH, la regulación normal de la actividad de calicreína plasmática y la cascada clásica del complemento no están presentes y la actividad no regulada de calicreína plasmática da como resultado una generación excesiva de bradiquinina. Los inhibidores de calicreína de la presente divulgación pueden usarse para aliviar el edema en pacientes con AEH y pueden inhibir adicionalmente la producción de bradiquinina para aliviar el edema en pacientes con AEH. Para el tratamiento de AEH, los inhibidores de calicreína de la presente divulgación pueden administrarse mediante un método tal como, pero sin limitarse a, vía oral, parenteral, de depósito, transdérmica o cualquier otra vía adecuada que logre una exposición sistémica adecuada. Los péptidos pueden usarse con otros medicamentos, por ejemplo, esteroides (danazol, oxandrolona y estanozolol) y medicamentos analgésicos usados frecuentemente para tratar el AEH, y pueden usarse con otros productos aprobados para el tratamiento de AEH [por ejemplo KALBITOR® (Dyax Corp., Burlington MA), FIRAZYR® (Shire, Dublín, Irlanda), Berinert® (CSL Behring, Prussia, PA) o CINRYZE™ (ViroPharma, Exton, PA)] para aumentar la eficacia de los productos aprobados.

Procedimientos quirúrgicos

El tratamiento de una respuesta inflamatoria sistémica inducida por la calicreína con inhibidores de calicreína puede ser especialmente beneficioso, por ejemplo, en pacientes que se someten a procedimientos quirúrgicos tales como, pero sin limitarse a, intervenciones que implican cirugía cardiotorácica, por ejemplo, intervenciones de derivación cardiopulmonar (DCP) e injerto de derivación de arteria coronaria (IDAC). La cirugía cardiotorácica se refiere generalmente a la cirugía del área del tórax tal como, pero sin limitarse a, la cirugía del corazón y los pulmones. Las enfermedades que pueden tratarse mediante cirugía cardiotorácica incluyen, pero no se limitan a, arteriopatía coronaria, tumores y cánceres de pulmón, esófago y pared torácica, anomalías de válvulas y vasos cardíacos, y defectos congénitos que implican al tórax o el corazón. Cuando la cirugía cardiotorácica se usa para tratamiento, existe un riesgo de pérdida de sangre (por ejemplo, isquemia inducida por la cirugía) y un riesgo de aparición de respuesta inflamatoria sistémica (RIS) que puede dar como resultado disfunción orgánica grave (por ejemplo, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS)).

El uso de inhibidores de calicreína para tratar y/o prevenir la pérdida de sangre perioperatoria y reducir el flujo

sanguíneo cardíaco puede ser útil, ya que se realizan varios procedimientos quirúrgicos altamente invasivos cada día que dan como resultado pérdida de sangre o ponen a los pacientes en un alto riesgo de pérdida de sangre. Los procedimientos quirúrgicos que implican pérdida de sangre incluyen, pero no se limitan a, aquellas que implican métodos de circulación extracorporeal tales como la cirugía cardiotorácica, por ejemplo, DCP. En tales métodos, se detiene el corazón de un paciente y se llevan a cabo la circulación, oxigenación y mantenimiento de la volemia usando medios artificiales mediante un circuito extracorporeal y un oxigenador de membrana sintética. Adicionalmente, con la cirugía cardiotorácica, por ejemplo, DCP y/o cirugía que implica un traumatismo extenso en el hueso tal como, pero sin limitarse a, los procedimientos de artroplastia de cadera y la hendidura esternal necesaria en IDAC, el contacto de la sangre de un paciente con las superficies cortadas del hueso y/o el equipo de DCP puede ser suficiente para activar una o varias respuestas en cascada no deseadas que pueden dar como resultado una variedad de alteraciones en la sangre y la vasculatura. Tales respuestas incluyen, pero no se limitan a, una respuesta del sistema de activación por contacto (SAC), que puede conducir a una pérdida de sangre perioperatoria extensa que puede requerir una transfusión de sangre inmediata, así como una respuesta inflamatoria sistémica (RIS), que puede dar como resultado, a su vez, daño permanente en los tejidos y órganos de un paciente.

Por ejemplo, los procedimientos de IDAC pueden usarse en el tratamiento de la arteriopatía coronaria (APC) aterosclerótica para unir el vaso sanguíneo ocluido y restaurar la sangre al corazón. La APC por aterosclerosis provoca un estrechamiento de la luz de una o varias de las arterias coronarias, lo que limita el flujo de sangre al miocardio (es decir, el músculo cardíaco) y puede provocar angina, insuficiencia cardíaca e infartos de miocardio. En el estadio terminal de la aterosclerosis de las arterias coronarias, la circulación coronaria puede ocluirse casi por completo, provocando insuficiencia cardíaca o angina potencialmente mortal, con una mortalidad muy alta. Los procedimientos de IDAC se encuentran entre las cirugías más invasivas en las que se implantan una o más venas o arterias sanas para proporcionar una "derivación" (*bypass*) alrededor del área ocluida del vaso afectado. A pesar de estos resultados muy alentadores, con frecuencia es necesario repetir los procedimientos de IDAC, tal como se indica mediante un aumento del número de pacientes que se someten eventualmente a un segundo e incluso un tercer procedimiento y la morbilidad perioperatoria observada en los procedimientos primarios de IDAC aumenta cuando se realiza el procedimiento por segunda y tercera vez.

Casi todos los procedimientos de IDAC realizados para cardiopatía valvular y/o congénita, trasplante de corazón y procedimientos aórticos mayores, todavía se llevan a cabo en pacientes soportados por DCP. En la DCP, se insertan cánulas grandes en los grandes vasos de un paciente para permitir el bombeo mecánico y la oxigenación de la sangre usando un oxigenador de membrana. La sangre se devuelve al paciente sin fluir a través de los pulmones, ya que los pulmones se hipoperfunden durante este procedimiento. La DCP se ha usado extensamente en una variedad de procedimientos realizados durante casi medio siglo con resultados exitosos. La interacción entre las superficies artificiales, las células sanguíneas, las proteínas sanguíneas, el endotelio vascular dañado y los tejidos extravasculares, tal como el hueso, altera la hemostasia y con frecuencia activa el SAC, que, tal como se señaló anteriormente, puede dar como resultado una variedad de alteraciones en la sangre y la vasculatura. Tal alteración conduce a un sangrado perioperatorio excesivo, que puede requerir una transfusión de sangre inmediata. Una consecuencia de la circulación de sangre completa a través de un circuito extracorporeal en DCP también puede incluir la activación de la respuesta inflamatoria sistémica (RIS), que se inicia mediante la activación por contacto de los sistemas de coagulación y del complemento.

Gran parte de la morbilidad asociada con los procedimientos quirúrgicos de DCP es el resultado de los efectos de activación de la coagulación, fibrinólisis o sistemas del complemento. Tal activación puede dañar el aparato respiratorio, lo que conduce al síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA), deterioro de la circulación renal y esplácnica, y la inducción de una coagulopatía generalizada que conduce a la pérdida de sangre y la necesidad de transfusiones. Además, las patologías asociadas con RIS incluyen, pero no se limitan a, déficits neurocognitivos, accidente cerebrovascular, insuficiencia renal, infarto agudo de miocardio y daño al tejido cardíaco puede observarse con la activación de los sistemas de coagulación, fibrinólisis o del complemento.

La administración de transfusiones de sangre eleva el coste de IDAC u otros procedimientos similares que requieren DCP y también presentan un riesgo significativo de infección. En ausencia de cualquier intervención farmacológica, normalmente deben emplearse de tres a siete unidades de sangre en un paciente, incluso con excelentes técnicas quirúrgicas. Por consiguiente, existe un incentivo considerable para el desarrollo de compuestos farmacológicamente nuevos y mejorados para reducir, tratar y/o prevenir la hemorragia perioperatoria y la RIS en pacientes sometidos a procedimientos tales como, pero sin limitarse a, DCP e IDAC. El uso de los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento puede mejorar estos diversos procedimientos y también puede conducir a la mejora de los síntomas no deseados que pueden aparecer con estos procedimientos.

Isquemia cerebral y lesión por reperfusión

Los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento pueden ser útiles para reducir y/o prevenir la isquemia cerebral, así como la lesión por reperfusión asociada con la isquemia cerebral. Un estado isquémico en el que el riego sanguíneo al cerebro está bloqueado puede conocerse como accidente isquémico cerebral y/o isquemia cerebral. Esta interrupción del riego sanguíneo al cerebro puede ser el resultado de una variedad de causas incluyendo, pero sin limitarse a, un bloqueo o una oclusión intrínsecos del vaso sanguíneo, una fuente de oclusión originada de forma

remota, una presión de perfusión disminuida o una viscosidad sanguínea aumentada que da como resultado una disminución del flujo sanguíneo cerebral o ruptura o escape de vasos sanguíneos en el espacio subaracnoideo o tejido intracerebral. La isquemia cerebral puede dar como resultado déficits transitorios o permanentes y la gravedad del daño neurológico en un paciente que ha experimentado isquemia cerebral depende de la intensidad y la duración del acontecimiento de isquemia. Un accidente isquémico transitorio (AIT) es aquel en el que el flujo sanguíneo al cerebro se interrumpe brevemente y provoca déficits neurológicos temporales. Los síntomas de AIT incluyen entumecimiento o debilidad de la cara o las extremidades, pérdida de la capacidad de hablar con claridad y/o comprender el habla de los demás, pérdida de visión u oscurecimiento de la visión y mareos. Los accidentes de isquemia cerebral permanentes, también conocidos como accidentes cerebrovasculares, están provocados por una interrupción más prolongada del flujo sanguíneo al cerebro como resultado de una embolia, un trombo o sangrado en el cerebro (por ejemplo, una hemorragia). Los términos "accidente cerebrovascular tromboembólico" o "tromboembolia" tal como se usan en el presente documento para referirse a un accidente cerebrovascular que ha estado provocado por una trombosis o una embolia. Un accidente cerebrovascular provoca una pérdida de neuronas que puede dar como resultado un déficit neurológico que puede mejorar, pero no se resolverá por completo. Los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento pueden ser útiles para prevenir y/o reducir el cambio de un accidente cerebrovascular incluyendo, pero sin limitarse a, accidentes cerebrovasculares embólicos, trombóticos, tromboembólicos y asociados a hemorragia.

Los accidentes cerebrovasculares pueden ser el resultado de una variedad de causas. Una categoría de accidentes cerebrovasculares incluye accidentes cerebrovasculares perioperatorios que pueden estar asociados con la formación de trombos o embolia. En pacientes con accidente cerebrovascular, existe un núcleo del déficit neurológico marcado por isquemia total y/o necrosis tisular. Esta área normalmente está rodeada por tejido isquémico, denominado penumbra isquémica, que recibe circulación colateral. La isquemia en la penumbra no siempre da como resultado daños irreversibles. En algunos casos, la restauración del flujo sanguíneo (reperfusión) en la penumbra puede prevenir la isquemia y necrosis totales en esta área. Sin embargo, la perfusión también se ha asociado con lesiones en el tejido que rodea el núcleo.

Una vez que se devuelve el flujo sanguíneo, células sanguíneas tales como neutrófilos, atacan el tejido dañado, lo que provoca a su vez inflamación y/o daño adicional. La lesión por perfusión se asocia con un flujo de entrada de neutrófilos al tejido afectado y la posterior activación de los neutrófilos. Los neutrófilos pueden liberar enzimas líticas que inducen directamente daño al tejido y mediadores proinflamatorios tales como citocinas que amplifican la reacción inflamatoria local. El flujo de entrada de neutrófilos a un sitio de daño isquémico también puede obstruir los capilares y provocar vasoconstricción. Se ha encontrado que la calicreína desempeña un papel en la quimiotaxis de neutrófilos, la activación de neutrófilos y la lesión por perfusión. Por tanto, los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento pueden usarse para prevenir y/o reducir la lesión por perfusión y pueden detener y/o dificultar la cascada isquémica. Como ejemplo no limitativo, la lesión por perfusión puede reducirse y/o prevenirse usando inhibidores de calicreína para reducir y/o prevenir uno o más de: infiltración de neutrófilos, activación de neutrófilos, liberación de citocinas, liberación de elastasa, vasodilatación, edema cerebral, volumen de infarto y déficits neurológicos.

En indicaciones quirúrgicas, accidente cerebrovascular y hemorragia intracerebral, la administración local o sistémica de los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento puede ser una opción de tratamiento eficaz. Para la administración local, los péptidos pueden incrustarse en esponjas, láminas y películas para optimizar el contacto vascular.

En el presente documento, se describe una variedad de inhibidores de una calicreína, por ejemplo una calicreína plasmática, que pueden ser útiles en el tratamiento de lo anterior.

En una realización, los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento pueden incluir una modificación terminal en los extremos N o C-terminal con la adición de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más. En una realización adicional, la modificación terminal en los extremos N o C-terminal puede incluir la adición de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más y una cisteína en la región terminal.

En una realización, los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento pueden incluir al menos 1, al menos 2 o al menos 3 residuos de cisteína. En una realización adicional, los inhibidores de calicreína pueden contener una modificación terminal en los extremos N o C-terminal y pueden incluir la adición de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más y una cisteína en la región terminal. La modificación terminal y/o la adición de una cisteína en la región terminal puede mejorar la actividad farmacológica tal como, pero sin limitarse a, la potencia de los inhibidores de calicreína. Como ejemplo no limitativo, los inhibidores de calicreína descritos en las tablas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 9 pueden incluir una modificación terminal de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 residuos o más en el extremo N-terminal en la que uno de los residuos adicionales es cisteína para mejorar la potencia.

Métodos para el tratamiento de enfermedades.

La divulgación se refiere, en particular, al uso de péptidos o peptidomiméticos, a menudo cíclicos, y a composiciones que contienen al menos un péptido, para el tratamiento de un trastorno, estado o una enfermedad.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “tratamiento” y similares, se refieren al remedio o al alivio de procesos patológicos. En el contexto de la presente divulgación, en la medida en que se refiere a cualquiera de los otros estados enumerados a continuación, los términos “tratar”, “tratamiento” y similares significan remediar o aliviar al menos un síntoma asociado con tal estado, o ralentizar o revertir la progresión o la progresión anticipada de tal estado, tal como ralentizar la progresión de una neoplasia maligna o un cáncer, o aumentar la eliminación de un organismo infeccioso para aliviar/reducir los síntomas provocados por la infección, por ejemplo, hepatitis provocada por infección con un virus de la hepatitis.

Por “disminuir” o “reducir” en el contexto de un marcador de enfermedad o síntoma se entiende una disminución estadísticamente significativa de tal nivel. La disminución puede ser, por ejemplo, de al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40% o más, y preferiblemente es menor que un nivel aceptado dentro del intervalo normal para un individuo sin tal trastorno.

Por “aumento” o “elevación” en el contexto de un marcador de enfermedad o síntoma se entiende un aumento estadísticamente significativo de tal nivel. El aumento puede ser, por ejemplo, de al menos el 10%, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40% o más, y es preferiblemente hasta un nivel aceptado dentro del intervalo normal para un individuo sin tal trastorno.

Tal como se usa en el presente documento, las expresiones “cantidad terapéuticamente eficaz” y “cantidad profilácticamente eficaz” se refieren a una cantidad que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento, la prevención o el manejo de procesos patológicos o un síntoma manifiesto de uno o más procesos patológicos. La cantidad específica que es terapéuticamente eficaz puede determinarla fácilmente un facultativo médico habitual, y puede variar dependiendo de factores conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, el tipo de procesos patológicos, la historia y edad del paciente, el estadio de los procesos patológicos y la administración de otros agentes que inhiben los procesos patológicos.

Tal como se usa en el presente documento, una “composición farmacéutica” comprende una cantidad farmacológicamente eficaz de un péptido y un portador farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa en el presente documento, “cantidad farmacológicamente eficaz”, “cantidad terapéuticamente eficaz” o simplemente “cantidad eficaz” se refiere a aquella cantidad de un péptido eficaz para producir el resultado farmacológico, terapéutico o preventivo pretendido. Por ejemplo, si un tratamiento clínico dado se considera eficaz cuando hay al menos una alteración (aumento o disminución) del 10% en un parámetro medible asociado con una enfermedad o un trastorno, una cantidad terapéuticamente eficaz de un fármaco para el tratamiento de esa enfermedad o ese trastorno es la cantidad necesaria para efectuar una alteración de al menos el 10% en ese parámetro. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido puede ser aquella que altere la unión de una diana a su pareja de unión natural en al menos el 10%.

El término “portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a un portador para la administración de un agente terapéutico. Tales portadores incluyen, pero no se limitan a, solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, agua, glicerol, etanol, y combinaciones de los mismos. El término excluye específicamente el medio de cultivo celular. Para los fármacos administrados por vía oral, los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes inertes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y conservantes. Los diluyentes inertes adecuados incluyen carbonato de sodio y calcio, fosfato de sodio y calcio y lactosa, mientras que el almidón de maíz y el ácido alginico son agentes disgregantes adecuados. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina, mientras que el agente lubricante, si está presente, será generalmente estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse con un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal. Los agentes incluidos en las formulaciones farmacológicas se describen adicionalmente a continuación en el presente documento.

La eficacia del tratamiento o la mejora de la enfermedad puede evaluarse, por ejemplo, midiendo la progresión de la enfermedad, la remisión de la enfermedad, la intensidad de los síntomas, la reducción del dolor, la calidad de vida, la dosis de un medicamento requerida para mantener el efecto del tratamiento, el nivel de un marcador de enfermedad o cualquier otro parámetro medible apropiado para una enfermedad dada que esté tratándose o seleccionada como diana para la prevención. Está dentro de la capacidad de un experto en la técnica monitorizar la eficacia del tratamiento o la prevención midiendo uno cualquiera de tales parámetros, o cualquier combinación de parámetros. En relación con la administración de un péptido o una composición farmacéutica del mismo, “eficaz contra” una enfermedad o un trastorno indica que la administración de una manera clínicamente apropiada da como resultado un efecto beneficioso para al menos una fracción estadísticamente significativa de pacientes, tal como una mejora de los síntomas, una cura, una reducción de la carga patológica, reducción de la masa tumoral o del número de células, prolongación de la vida, mejora en la calidad de vida u otro efecto reconocido generalmente como positivo por los médicos familiarizados con el tratamiento del tipo particular de enfermedad o trastorno.

Un efecto preventivo o de tratamiento es evidente cuando hay una mejora estadísticamente significativa en uno o más parámetros del estado patológico, o por una ausencia de empeoramiento o desarrollo de síntomas cuando se anticiparían si no. Como ejemplo, un cambio favorable de al menos el 10% en un parámetro medible de la enfermedad, y preferiblemente al menos el 20%, el 30%, el 40%, el 50% o más puede ser indicativo de un tratamiento eficaz. La

eficacia de un fármaco o una formulación de péptido dada de ese fármaco también puede considerarse usando un modelo de animal de experimentación para la enfermedad dada tal como se conoce en la técnica. Cuando se usa un modelo de animal de experimentación, la eficacia del tratamiento se evidencia cuando se observa una reducción estadísticamente significativa de un marcador o síntoma.

El péptido y un agente terapéutico adicional pueden administrarse en combinación en la misma composición, por ejemplo, por vía parenteral, o el agente terapéutico adicional puede administrarse como parte de una composición independiente o mediante otro método descrito en el presente documento.

Dosificación y administración

Para su uso como tratamiento de sujetos humanos, los péptidos pueden formularse como composiciones farmacéuticas. Dependiendo del sujeto que vaya a tratarse, el modo de administración y el tipo de tratamiento deseado (por ejemplo, prevención, profilaxis o terapia), los péptidos se formulan de manera acorde con estos parámetros. Un resumen de tales técnicas se encuentra en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, (2005); y Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York.

Las composiciones de la presente divulgación se proporcionan preferiblemente en una cantidad terapéuticamente eficaz, que puede ser, por ejemplo, una cantidad diaria de desde 1 mg hasta 1.600 mg, más preferiblemente de 10 mg a 800 mg, e incluso más preferiblemente de 100 mg a 400 mg. En una realización, una composición farmacéutica comprende una cápsula, por ejemplo en forma de dosificación unitaria.

Formas de dosificación unitaria

Los péptidos de la divulgación pueden estar presentes en cantidades que ascienden al 1-95% en peso del peso total de la composición. La composición puede proporcionarse en una forma de dosificación que sea adecuada para administración oral. Por tanto, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, cápsulas duras (por ejemplo, cápsulas de gelatina dura o cápsulas de hidroxipropil-metilcelulosa dura), cápsulas de gelatina blanda, comprimidos, comprimidos oblongos, comprimidos con recubrimiento entérico, comprimidos masticables, cápsulas de gelatina dura con recubrimiento entérico, cápsulas de gelatina blanda con recubrimiento entérico, minicapsulas, pastillas para chupar, películas, tiras, cápsulas de gelatina, grageas, disoluciones, emulsiones, suspensiones, jarabes o pulverizaciones.

A los pacientes se les puede administrar una cantidad terapéutica de un péptido, tal como 0,01 mg/kg, 1,0 mg/kg o 15 mg/kg. Para la administración a sujetos humanos, la dosificación de péptidos de la presente divulgación es normalmente de 0,01 a 15 mg/kg, más preferiblemente de 3 a 5 mg/kg. Sin embargo, los niveles de dosificación pueden depender en gran medida de la naturaleza del estado, la eficacia del fármaco, el estado del paciente, el criterio del facultativo y la frecuencia y el modo de administración.

En otras realizaciones, los péptidos se administran a una frecuencia de, por ejemplo, cada 4 h, cada 6 h, cada 12 h, cada 18 h, cada 24 h, cada 36 h, cada 72 h, cada 84 h, cada 96 h, cada 5 días, cada 7 días, cada 10 días, cada 14 días, cada 3 semanas o más. Las composiciones pueden administrarse una vez al día o el péptido puede administrarse como dos, tres o más subdosis a intervalos apropiados en todo el día o a través de una formulación de liberación controlada. En ese caso, el péptido contenido en cada subdosis debe ser correspondientemente más pequeño para lograr la dosis diaria total. La unidad de dosificación también puede combinarse para la administración durante varios días, por ejemplo, usando una formulación de liberación sostenida convencional, que proporciona la liberación sostenida del péptido a lo largo de un periodo de varios días.

Las formulaciones de liberación sostenida se conocen bien en la técnica y son particularmente útiles para la administración de agentes a un sitio particular, tal como podría usarse con las composiciones de péptido de la presente divulgación. El efecto de una dosis única puede ser duradero, de tal manera que las dosis posteriores se administran a intervalos de no más de 3, 4 ó 5 días, o a intervalos de no más de 1, 2, 3 ó 4 semanas.

El péptido puede administrarse mediante infusión intravenosa a lo largo de un periodo de tiempo, tal como a lo largo de un periodo de 5 minutos, 10 minutos, 15 minutos, 20 minutos o 25 minutos. La administración puede repetirse, por ejemplo, de forma regular, tal como quincenalmente (es decir, cada dos semanas) durante un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses o más. Después de un régimen de tratamiento inicial, los tratamientos pueden administrarse con menos frecuencia. Por ejemplo, después de la administración quincenal durante tres meses, la administración puede repetirse una vez al mes, durante seis meses o un año o más. La administración del péptido o la composición puede reducir, disminuir, aumentar o alterar la unión o cualquier proceso fisiológicamente perjudicial, por ejemplo, en una célula, un tejido, sangre, orina u otro compartimento de un paciente en al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80% o al menos el 90% o más.

Antes de la administración de una dosis completa del péptido o la composición, a los pacientes se les puede

administrar una dosis más pequeña, tal como una reacción de infusión al 5%, y monitorizar sus efectos adversos, tal como una reacción alérgica, o niveles elevados de lípidos o tensión arterial elevada. En otro ejemplo, el paciente puede monitorizarse para detectar efectos inmunoestimuladores no deseados, tales como niveles elevados de citocinas (por ejemplo, TNF-alfa o INF-alfa).

La predisposición genética desempeña un papel en el desarrollo de algunas enfermedades o trastornos. Por tanto, un paciente que necesita un péptido o una composición de péptido puede identificarse elaborando una historia familiar o, por ejemplo, examinando una o más variantes o marcadores genéticos. Un proveedor de atención sanitaria, tal como un médico, una enfermera o un miembro de la familia, puede elaborar una historia familiar antes de prescribir o administrar una composición terapéutica de la presente invención. Por ejemplo, una deficiencia genética de la proteína inhibidora de C-1 conduce a y angioedema hereditario. También puede realizarse un análisis de sangre en el paciente para determinar si el paciente tiene deficiencia de inhibidor de C-1 antes de administrar un péptido al paciente.

Kits

Cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento puede estar comprendida en un kit. En un ejemplo no limitativo, los péptidos pueden incluirse en un kit para tratar una enfermedad. El kit puede incluir un vial de polvo de péptido seco y estéril, disolución estéril para disolver el polvo secado y una jeringa para equipo de infusión para administrar el péptido.

Cuando los péptidos se proporcionan como un polvo seco, se contempla que se proporcionen entre 10 microgramos y 1000 miligramos, o al menos o como máximo esas cantidades de péptidos en kits de la invención.

El medio de recipiente incluirá generalmente al menos un vial, tubo de ensayo, matraz, frasco, jeringa y/u otro medio de recipiente, en el que se colocan las formulaciones de péptido, preferiblemente, asignadas adecuadamente. Los kits también pueden comprender un segundo medio de recipiente para contener un tampón estéril, farmacéuticamente aceptable y/u otro diluyente.

Un kit puede incluir instrucciones para emplear los componentes del kit, así como el uso de cualquier otro reactivo no incluido en el kit. Las instrucciones pueden incluir variaciones que pueden implementarse.

Aunque se han mostrado y descrito en particular diversas realizaciones de la invención, los expertos en la técnica entenderán que pueden realizarse diversos cambios en la forma y los detalles sin apartarse del espíritu y el alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

Ejemplo 1. Activación de precalicreína humana por el factor alfa-XIIa humano

Se activó precalicreína (Enzyme Research Laboratories, HPK 1302) por factor alfa-XIIa humano (Enzyme Research Laboratories, HFXIIa 1212a) a una razón molar de 80:1 en Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM y Tween-20 al 0,02% durante 10 minutos a 37°C. Se extinguió la reacción con NaOAc 0,1 M, se dializó durante una noche a 4°C en NaOAc 10 mM, NaCl 150 mM, pH 5,2 y se almacenó a -80°C.

Ejemplo 2. Aislamiento y activación de calicreína plasmática recombinante

Según la presente divulgación, se purifica en la proforma un fragmento de calicreína plasmática humana expresado de manera recombinante (expresado como fragmento Gly20-Ala638 en la línea celular de mieloma murino derivada de NS0 correspondiente a la proforma sin péptido señal) con una cola de His C-terminal (número de registro Swiss-Prot P03952). La activación (por ejemplo, con termolisina o factor XIIa) se lleva a cabo convirtiendo la proforma en una cadena pesada y una ligera que están unidas por enlaces disulfuro. La posterior biotinylación se lleva a cabo entonces usando sulfo-NHS-LC-biotina.

Ejemplo 3. Biotinylación a gran escala de calicreína plasmática

Se usó calicreína plasmática activada (pKAL) a 3,7 μ M (0,31 mg/ml) en tampón ácido acético pH 5,2 para producir pKAL biotinylada. Se preparó recientemente sulfo-NHS-LC-biotina (Thermo Scientific n.º 21327) según las instrucciones del fabricante. Se usó un exceso molar de diez veces de sulfo-NHS-LC_biotina con respecto a la proteína pKAL basándose en las pruebas piloto.

Las concentraciones finales en la mezcla de reacción fueron pKAL 2,47 μ M y sulfo-NHS-LC-biotina 24,7 μ M en tampón fosfato de sodio 10 mM, pH 8,0. Se añadieron alícuotas de la muestra a 12 tubos de 100 μ l y se incubaron a 4°C durante 2 horas. Se detuvo la reacción mediante la adición de Tris-HCl 1 M pH 7,5 a una concentración final de 0,16 M en cada tubo y se incubó en hielo durante 10 minutos. Entonces se dializó la pKAL biotinylada en acetato 10 mM y NaCl 150 mM, pH 5,3 durante la noche a 4°C. Después de la diálisis, se determinó la eficiencia de la biotinylación usando resina SA Ultralink (Thermo Scientific n.º 53114) para extraer la biotina-pKAL y se estimó la concentración

ejecutando cantidades conocidas de pKAL en un gel de Bis-Tris al 4-12% (Invitrogen n.º NP0322BOX). Se tomaron alícuotas de la pKAL biotinilada y se almacenaron a -80°C.

Ejemplo 4. Ensayo de inhibición enzimática

Se hizo reaccionar calicreína plasmática humana activada (Enzyme Research Laboratories, HPKa 1303) con H-Pro-Phe-Arg-7-amido-4-metilcumarina (H-Pro-Pre-Arg-AMC) (un sustrato fluorogénico para calicreína plasmática así como pancreática y urinaria; Bachem I-1295) y péptidos inhibidores candidatos para determinar la CI_{50} del inhibidor

Se realizaron diez diluciones en serie de péptidos de 8 veces (disoluciones madre en DMSO 10 mM) en DMSO y luego se añadieron a TCNB (Tris-HCl 50 mM pH 7,2, NaCl 150 mM, $CaCl_2$ 10 mM, Brij-35 al 0,05%) y se sonicaron. Se añadieron 50 μ l de las diluciones de péptidos a placas de microtitulación (96 pocillos, superficie de color negro sin unión, Corning, 3650) y se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente con calicreína humana activada 4 nM (concentración final después de la adición de sustrato fluorogénico: 1 nM). Se incubaron las muestras durante 1 hora a temperatura ambiente con H-Pro-Phe-Arg-AMC 2 mM (concentración final de 500 μ M). Se midieron las unidades relativas de fluorescencia (URF) en excitación/emisión a 360 nm/460 nm mediante un lector SpectraMax M3.

Ejemplo 5. Actividad de pKAL biotinilada

Se incubaron pKAL biotinilada y no biotinilada con H-Pro-Phe-Arg-7-amido-4-metilcumarina (H-Pro-Pre-Arg-AMC) (Bachem I-1295, disolución madre 200 mM en DMSO). Se incubaron pKAL no biotinilada o biotinilada 1 nM con diferentes concentraciones de H-Pro-Phe-Arg-AMC en TCNB recién preparado (Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, $CaCl_2$ 10 mM y Brij-35 al 0,5%). Se midió la fluorescencia después de 10 minutos a 360 nm y la emisión a 460 nm. Se calcularon $V_{m\acute{a}x}$ y CE_{50} usando el software SoftMax Pro. La comparación de la actividad de pKAL antes y después de la biotinilación reveló que pKAL biotinilada y pKAL no biotinilada tienen actividades comparativas mientras que el sustrato solo no tenía actividad.

Ejemplo 6. Aislamiento de péptidos que se unen a calicreína plasmática

Se identificaron inhibidores de calicreína a través de varias tandas de presentación en ARNm y selección. La presentación en ARNm se realizó generalmente tal como se describe (Roberts, R.W. y Szostak, J.W. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 12297-12302; documento WO2009067191) con las modificaciones que se describen en el presente documento. Se generaron combinaciones de ARN a partir de una mezcla de ocho bibliotecas de ADN. Las bibliotecas codifican para péptidos con un residuo de metionina N-terminal fijo, seguido secuencialmente por un residuo de cisteína fijo, once posiciones para aminoácidos, un ligador de glicina-serina-glicina y una cola de hexahistidina C-terminal. En cada una de las ocho bibliotecas, una de las once posiciones de las posiciones cuatro a once es un residuo de cisteína fijo. Los veinte aminoácidos están permitidos en las diez posiciones restantes en cada una de las ocho bibliotecas. A través de este diseño, cada una de las bibliotecas tiene dos residuos de cisteína que flanquean una región aleatoria que se compone de tres a ocho residuos, seguida de una segunda región aleatoria de dos a siete residuos. A nivel de ADN, las posiciones aleatorias con los veinte aminoácidos se producen de manera combinatoria con unidades de codones de repetición de NNS (N es A, G, C y T; S es G y C) (Devlin, J.J., *et al.*, (1990). Science 249, 404-406.) Para llevar a cabo la selección, una tanda de enriquecimiento comprendió las siguientes etapas: se tradujeron combinaciones de ARN que contenían un oligonucleótido reticulado con UV 3'-terminal que contiene puromicina con aminoácidos naturales en lisados de reticulocitos de conejo y se ciclaron los péptidos resultantes con dibromóxileno (J. Am. Chem Soc. 127:1 1727 (2005)).

Luego se realizó la selección directa de los péptidos por afinidad con la diana. El ARN correspondiente a los péptidos seleccionados por afinidad se sometió a transcripción inversa y se amplificó por PCR para crear una reserva de ADN bicatenario. Se tradujo *in vitro* la reserva de ADN usando ARN polimerasa de T7 para generar ARNm, y el ARNm producido se reticuló como anteriormente en su extremo 3'-terminal con un oligonucleótido que contiene puromicina. Las fusiones ARNm-puromicina se sometieron a traducción *in vitro* para generar la segunda tanda de la biblioteca, que ahora está enriquecida en péptidos que se unen a calicreína plasmática. Se repitió el ciclo de selección durante seis tandas. Después de la sexta tanda, se clonó y secuenció la reserva de ADN que representa los péptidos seleccionados, y se determinaron las secuencias de aminoácidos de los inhibidores de calicreína candidatos basándose en las secuencias de ADN. Las secuencias de péptidos identificadas se enumeran en la tabla 1.

Tabla 1. Péptidos de unión a calicreína

N.º de compuesto	Secuencia	SEQ ID NO.
R2001	MCNYWSPWTECSR	1
R2002	MCESICRVLYSE	2

Ejemplo 7. Optimización de los sitios de unión e inhibidores de calicreína

Se prepararon péptidos de unión a la calicreína mediante síntesis en fase sólida, se purificaron mediante RP-HPLC y se caracterizaron por su actividad enzimática (Tabla 2).

Tabla 2. Actividad inhibidora de calicreína de péptidos sintéticos

N.º de compuesto	Secuencia	Cíclico	Cl ₅₀ prom. (nM)	SEQ ID NO.
R2003	[m-Xilil(2,11)]-MCNYWSPWTECSR-NH2	Sí	3,1	3
R2004	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRVLYSE-NH2	Sí	0,501	4

Se optimizaron los péptidos realizando una variedad de truncamientos, deleciones y sustituciones. Cada derivado se sintetizó según los métodos de los ejemplos 12 a 14. Cada derivado se sometió a prueba para determinar la inhibición de calicreína plasmática tal como se describe en el ejemplo 4. Se enumeran derivados del péptido R2004 en la tabla 3 con sus valores de Cl₅₀ correspondientes. Se enumeran derivados del péptido R2003 en la tabla 4 con sus valores de Cl₅₀ correspondientes.

Tabla 3. Actividad inhibidora de calicreína

N.º de compuesto	Secuencia	Cíclico	Cl ₅₀ prom. (nM)	SEQ ID NO.
R2004	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRVLYSE-NH2	Sí	0,501	4
R2005	[m-Xilil(2,6)]-MCETICRVLYSD-NH2	Sí	1,8	5
R2006	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	11,8	6
R2007	MCESICRV-NH2	No	2000	7
R2008	[m-Xilil(2,6)]-Ac-MCESICRV-NH2	Sí	10,2	8
R2009	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CESICRV-NH2	Sí	8,6	9
R2010	[m-Xilil(2,6)]-MCESICR-Tbg-NH2	Sí	9,9	10
R2011	[trans-butenil(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	12800	11
R2012	[m-Xilil(2,6)]-MCES-Phg-CRV-NH2	Sí	8,3	12
R2013	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CES-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	6,8	13
R2014	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRVN-NH2	Sí	37,5	14
R2015	[m-Xilil(2,6)]-MCESICR-NH2	Sí	16500	15
R2016	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRA-NH2	Sí	3900	16
R2017	[m-Xilil(2,6)]-MCESACRV-NH2	Sí	2140	17
R2018	[m-Xilil(2,6)]-MCEAICRV-NH2	Sí	37,3	18
R2019	[m-Xilil(2,6)]-MCE-nMeS-CIRV-NH2	Sí	52,3	19
R2020	[m-Xilil(2,6)]-MC-Asp(T)-SICRV-NH2	Sí	13	20
R2021	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CESIC-Phe(4-CH ₂ NH ₂)-V-NH2	Sí	2000	21
R2022	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CESIC-Phe(3-CH ₂ NH ₂)-V-NH2	Sí	21000	22
R2023	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRV-NH2	Sí	19	23
R2024	[m-Xilil(2,6)]-MCASICRV-NH2	Sí	41,9	24
R2025	[m-Xilil(2,6)]-ACESICRV-NH2	Sí	9,5	25
R2026	[m-Xilil(2,6)]-MCES-nMeI-CRV-NH2	Sí		26
R2027	[m-Xilil(2,6)]-MC-nMeE-ESICRV-NH2	Sí	990	27
R2028	[hexiltetrazolil-m-xilil(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	714	28
R2029	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CESIC-hLys-V-NH2	Sí	8840	29
R2030	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CEP-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	25	30

ES 2 755 104 T3

R2031	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-Pen-ESICRV-NH2	Sí	1460	31
R2032	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CESI-Pen-RV-NH2	Sí	1030	32
R2033	[m-Xilil(2,6)]-Ac-Nvl-CESIC-hLys-V-NH2	Sí	8650	33
R2034	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-Pen-ESI-Pen-RV-NH2	Sí	>100000	34
R2035	[m-Xilil(2,6)]-Nvl-CESICRF-NH2	Sí	7200	35
R2036	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CAS-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	6,4	36
R2037	[m-Xilil(1,4)]-Ac-CSICRV-NH2	Sí	410	37
R2038	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRVLK-NH2	Sí	299	38
R2039	[m-Xilil(1,5)]-CAS-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	11,9	39
R2040	[m-Xilil(2,6)]-MCESICKV-NH2	Sí	733	40
R2041	[m-Xilil(1,5)]-heptanoil-CESICRV-NH2	Sí	24,2	41
R2042	[o-Xilil(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	3190	42
R2043	[p-Xilil(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	617	43
R2044	[m-Lutidina(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	645	44
R2045	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRVL-NH2	Sí	187	45
R2046	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRVLR-NH2	Sí	59,3	46
R2047	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-SICRV-NH2	Sí	17,4	47
R2048	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CAS-Tbg-CR-Tbg-NH2	Sí	1400	48
R2049	[m-Xilil(1,3)]-(des-NH2)-C-CIRV-NH2	Sí	16300	49
R2050	[m-Xilil(2,6)]-Ac-MCES-Chg-CRV-NH2	Sí	11	50
R2051	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-ESICRV-NH2	Sí	12,9	51
R2052	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CA-Sar-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	74,2	52
R2053	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CAS-Phg-C-Phe(4-CH2NH2)-Tbg-NH2	Sí	5340	53
R2054	[m-Xilil(2,6)]-Ac-Nvl-CESIC-(η - ω -MeR)-V-NH2	Sí	5000	54
R2055	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRVLRV-NH2	Sí	2,2	55
R2056	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRVLRYS-NH2	Sí	1,9	56
R2057	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CESICRVLRVSE-NH2	Sí	0,943	57
R2058	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CAP-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	29,5	58
R2059	[m-Xilil(1,5)]-Ac-CASFCR-Tbg-NH2	Sí	425	59
R2060	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-S-(D)-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	959	60
R2061	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-S-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	12,7	61
R2062	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-S-Cppg-CRV-NH2	Sí	2470	62
R2063	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-SVCRV-NH2	Sí	151	63
R2064	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-a-S-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	14,9	64
R2065	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-Nle-S-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	6,1	65
R2066	[m-Xilil(1,5)]-heptanoil-C-a-S-(D)-Phg-C-R-Tbg-NH2	Sí	4370	66
R2067	[m-Xilil(1,5)]-heptanoil-C-a-S-Phg-C-R-Tbg-NH2	Sí	19,1	67
R2068	[m-Xilil(1,5)]-heptanoil-C-a-nMeS-Phg-C-R-Tbg-NH2	Sí	26,8	68
R2069	[m-Xilil(1,5)]-heptanoil-C-a-nMeS-(D)-Phg-C-R-Tbg-NH2	Sí	903	69
R2070	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-S-Phg-CR-Cppg-NH2	Sí	118	70
R2071	[m-Xilil(1,5)]-Ac-C-a-S-Phg-CR-Chg-NH2	Sí	1920	71

R2072	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AAICRV-NH2	Sí	13	72
R2073	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-OctG-S-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	18,6	73
R2074	[m-Xilil(2,6)]-MCESICR-nMeV-NH2	Sí	11600	74
R2075	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AA-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	2,6	75
R2076	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-GA-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	11,4	76
R2077	[m-Xilil(2,6)]-MCES-Cpg-CRV-NH2	Sí	19,7	77
R2078	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	2,8	78
R2079	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-a-A-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	17,8	79
R2080	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-a-S-Phg-C-azaTrp-Tbg-NH2	Sí	13200	80
R2081	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-tranexámico-(D)-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	>10.000	81
R2082	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-a-S-Chg-C-R-Tbg-NH2	Sí	25,8	82
R2083	[o-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	>8900	83
R2084	[p-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	1800	84
R2085	[m-Xilil(1,5)]-CESICRV-NH2	Sí	21,9	85
R2086	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRELRYSE-NH2	Sí	8930	86
R2087	[m-Xilil(2,6)]-MCESICRE-NH2	Sí	>16600	87
R2088	[m-Xilil(2,6)]-MCESNCRV-NH2	Sí	2040	88
R2089	[m-Xilil(2,6)]-MCEYICRV-NH2	Sí	61,9	89
R2090	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-tranexámico-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	1750	90
R2091	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	3,2	91
R2092	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Acc-A-(D)-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	3960	92
R2093	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Acc-A-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	10,3	93
R2094	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AcPyr-A-(D)-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	46,9	94
R2095	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AcPyr-A-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	1,6	95
R2096	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Acbc-A-(D)-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	748	96
R2097	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Acbc-A-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	2	97
R2098	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-(D)-Phg-CR-Tbg-LRYSE-NH2	Sí	22,4	98
R2099	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Phg-CR-Tbg-LRYSE-NH2	Sí	0,1	99
R2100	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AcPyr-A-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	1,5	100
R2101	[m-Xilil(2,6)]-MCESI-nMeC-RV-NH2	Sí	12700	101
R2102	[3-metoxi-m-Xilil(2,6)]-MCESICRV-NH2	Sí	39,7	102

Tabla 4. Actividad inhibidora de calicreína

N.º de compuesto	Secuencia	Cíclico	Cl ₅₀ prom. (nM)	SEQ ID NO.
R2003	[m-Xilil(2,11)]-MCNYWSPWTECSR-NH2	Sí	3,1	3
R2103	MCNYWSPWTECSR-NH2	No	2,3	103
R2104	MCNYWSPWTECSA-NH2	No	3,4	104
R2105	MCNYWSPWTSEIC-NH2	No	4,4	105
R2106	Ac-NYWSPWT-NH2	No	374	106
R2107	MSNYWSPWTESSA-NH2	No	128	107
R2108	[m-Xilil(2,11)]-MCNYWSPWTECSA-NH2	Sí	4,1	108

R2109	[m-Xilil(2,13)]-MCNYWSPWTSEIC-NH2	Sí	9,2	109
R2110	MCNYWSPWTECS-NH2	No	3,5	110
R2111	MCNYWSPWTEC-NH2	No	3,8	111
R2112	MCNYWSPWTE-NH2	No	2,4	112
R2113	MCNYWSPWT-NH2	No	88,8	113
R2114	MCNYWSPW-NH2	No	349	114
R2115	MCNYWSP-NH2	No	>17300	115
R2116	Ac-CNYWSPWTECSA-NH2	No	3,5	116
R2117	Ac-NYWSPWTECSA-NH2	No	43,9	117
R2118	Ac-YWSPWTECSA-NH2	No	>100000	118
R2119	Ac-WSPWTECSA-NH2	No	>100000	119
R2120	Ac-SPWTECSA-NH2	No	>100000	120
R2121	Ac-PWTECSA-NH2	No	10300	121
R2122	MCNYWSPWTSEI-NH2	No	30,4	122
R2123	MCNYWSPWTSE-NH2	No	25,5	123
R2124	MCNYWSPWTS-NH2	No	54,6	124
R2125	[m-Xilil(1,10)]-Ac-CNYWSPWTECSA-NH2	Sí	10,6	125
R2126	Ac-CNYWSPWTEC-NH2	No	1,4	126
R2127	Ac-CNYWSPWTEA-NH2	No	35,6	127
R2128	Ac-CNYWSPWTAC-NH2	No	2,5	128
R2129	Ac-CNYWSPWAEC-NH2	No	12,3	129
R2130	Ac-CNYWSPATEC-NH2	No	5300	130
R2131	Ac-CNYWAPWTEC-NH2	No	127	131
R2132	Ac-CNYASPWTEC-NH2	No	4110	132
R2133	Ac-CNAWSPWTEC-NH2	No	39,1	133
R2134	Ac-CNYWSPWTC-NH2	No	86,7	134
R2135	Ac-CNYWSPWT-NH2	No	144	135
R2136	[m-Xilil(1,10)]-Ac-CNYWSPWTAC-NH2	Sí	6,1	136
R2137	Ac-CNYWSAWTEC-NH2	No	57,2	137
R2138	Ac-ANYWSPWTEC-NH2	No	22,3	138
R2139	Ac-Nvl-NYWSPWTAC-NH2	No	65,3	139
R2140	Ac-CNYWSPWTA-Nvl-NH2	No	105	140
R2141	Ac-Nvl-NYWSPWTA-Nvl-NH2	No	157	141
R2142	[ciclo(1,10)]-Ac-CNYWSPWTAC-NH2	Sí	2,7	142
R2143	Ac-ANYWSPWTAC-NH2	No	48,4	143
R2144	Ac-CNYWSPWTAA-NH2	No	95,5	144
R2145	Ac-ANYWSPWTAA-NH2	No	58,8	145
R2146	Ac-CNYWSPWAAC-NH2	No	17,5	146

Se llevó a cabo una optimización adicional realizando una variedad de truncamientos, delecciones y sustituciones. Cada derivado se sintetizó según los métodos de los ejemplos 12 a 14. Cada derivado se sometió a prueba para determinar la inhibición de calicreína plasmática tal como se describe en el ejemplo 4. Se enumeran derivados adicionales del péptido R2004 en la tabla 5 con sus valores de CI_{50} correspondientes. Se enumeran derivados adicionales del péptido R2003 en la tabla 6 con sus valores de CI_{50} correspondientes.

Tabla 5. Derivados optimizados adicionales de R2004

N.º de compuesto	Secuencia	Cíclico	CI50 prom. (nM)	SEQ ID NO.
R2147	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AcPyr-A-Chg-C-AzaTrp-Tbg-NH2	Sí	>2190	147
R2148	[m-Xilil(1,5)]-heptanoil-C-a-nMeS-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	28,8	148
R2149	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-(ciclo-L)-A-(D)-Phg-CRTbg-NH2	Sí	177	149
R2150	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-(ciclo-L)-A-Phg-CRTbg-NH2	Sí	0,764	150
R2151	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-AEA-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	1940	151
R2152	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-(3,3-dimetilbutan-2-amina)	Sí	319	152
R2153	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-OH	Sí	>8880	153
R2154	[m-Xilil(1,4)]-(2-SAc)-SICRV-NH2	Sí	>7930	154
R2155	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-SICRV-NH2	Sí	66,3	155
R2156	[p-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-SICRV-NH2	Sí	1,530	156
R2157	[1,3,5-Xilil(1,5,9)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-Tbg-PC-NH2	Sí	>14.300	157
R2158	[1,3,5-Xilil(1,5,11)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-Tbg-LRYC-NH2	Sí	2,340	158
R2159	[m-Xilil(2,6)]-Ac-Chg-CR-V-AC-NH2	Sí	>20100	159
R2160	[m-Xilil(2,6)]-Ac-Chg-CR-V-PC-NH2	Sí	>100000	160
R2161	[o-Xilil(1,4)]-(Des-NH2)-C-SICRV-NH2	Sí	2230	161
R2162	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-(2-amino-3,3-dimetilbutan-1-ol)	Sí	466	162
R2163	[m-Xilil(2,6)]-MCESIC-nMeR-V-NH2	Sí	1960	163
R2164	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-S-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	10,1	164
R2165	[m-Xilil(1,4)]-(Des-NH2)-C-nMeS-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	82,1	165
R2166	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-AcPyr-A-Chg-C-(4-BZA)-V-NH2	Sí	310	166

R2167	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	10,7	167
R2168	[m-Xilil(1,4)]-(Des-NH ₂)-C-(ciclo-L)-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	11,3	168
R2169	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-(ciclo-L)-A-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	1,9	169
R2170	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-(ciclo-L)-A-Chg-CR-Tbg-LRY-NH ₂	Sí	2,1	170
R2171	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-ESIC-r-V-NH ₂	Sí	>100,00 0	171
R2172	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-ESIC-Orn-V-NH ₂	Sí	>100,00 0	172
R2173	[ciclo(1,5)]-ACP-Aib-A-Chg-DR-Tbg-NH ₂	Sí	>100,00 0	173
R2174	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-(ciclo-L)-Chg-CK-Tbg-NH ₂	Sí	870	174
R2175	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-(ciclo-L)-A-Chg-CR-V-OH	Sí	379	175
R2176	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-Aib-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	15,2	176
R2177	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-Acc-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	34,1	177
R2178	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-(ciclo-L)-A-Chg-CR-V-NHCH ₃	Sí	3,2	178
R2179	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-AcPyr-A-Chg-C-(3-BZA)-V-NH ₂	Sí	>8230	179
R2180	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-(a-Me)-P-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	6,8	180
R2181	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-Acbc-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	18,5	181
R2182	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-AcPyr-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	13,5	182
R2183	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Chg-CR-V-OH	Sí	>3500	183
R2184	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Chg-CR-V-NHCH ₃	Sí	15,7	184
R2185	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH ₂)-C-AcPyr-A-Chg-C-(4-BZA-N-hexilcarbamato)-V-NH ₂	Sí	>100,00 0	185
R2186	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Chg-C-R(N-ω-hexilcarbamato)-Tbg-NH ₂	Sí	>100,00 0	186
R2187	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-(D)-Phg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	>4700	187
R2188	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Phg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	3,4	188
R2189	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-(2-OMe)-Phg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	39,8	189

R2190	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-Tbg-LRYSE-NH2	Sí	0,511	190
R2191	[m-Xilil(1,5)]-(des-NH2)-C-Aib-A-Chg-CR-Tbg-LRYSE-(PEG40K)-NH2	Sí	5,5	191
R2192	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-(α -Me)-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	851	192
R2193	[m-Xilil(2,6)]-(BODIPY-TMR)-MCESICRV-NH2	Sí	205	193
R2194	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-Aze-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	127	194
R2195	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Chg-CR-OH	Sí	>175000	195
R2196	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Chg-CR-(S)-2,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina	Sí	35,6	196
R2197	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Chg-CR-2-metil-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)propan-1-amina	Sí	56,9	197
R2198	[m-Xilil(1,4)]-(Des-NH2)-C-P-Chg-C-(2-APY-Tbg-NH2	Sí	> 15.000	198
R2199	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-(α -Me)-Pro-Phg-CR-Tbg-NH2	Sí	0,54	199
R2200	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-(α -Me)-Pro-(D-Phg)-CR-Tbg-NH2	Sí	470	200
R2201	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-E-Chg-CR-Tbg-NH2	Sí	7	201
R2202	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Phg-CR-Tbg-L-OH	Sí	58,8	202
R2203	[Ácido m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Chg-C-2-amino-4-(6-aminopiridin-3-il)butanoico-V-NH2	Sí	>10000	203
R2204	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-Ser-(nMe)-Ile-CR-Tbg-NH2	Sí	>25.000	204
R2205	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Phg-C-4-Cl-Phe-Tbg-NH2	Sí	>75000	205
R2206	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-(D)-Phg-C-4-Cl-Phe-Tbg-NH2	Sí	>75000	206
R2207	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Phg-C-3-Cl-Phe-Tbg-NH2	Sí	>75000	207
R2208	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-(D-Phg)-C-3-Cl-Phe-Tbg-NH2	Sí	>75000	208
R2209	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-Phg-C-5-Cl-Trp-Tbg-NH2	Sí	>75000	209
R2210	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH2)-C-P-(D-Phg)-C-5-Cl-Trp-Tbg-NH2	Sí	>75000	210

5	R2211	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Phg-C-Dab-Tbg-NH ₂	Sí	>75000	211
	R2212	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-(D-Phg)-C-Dab-Tbg-NH ₂	Sí	>100000	212
10	R2213	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-E-(PEG40K)-Chg-CR-Tbg-NH ₂	Sí	461,6	213
	R2214	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-Cys-P-Chg-CR-Tbg-OH	Sí	4000	214
15	R2215	[m-Xilil(1,4)]-(Des-NH ₂)-C-P-Phg-C-(4-amidino)-Phe-V-NH ₂	Sí	6386	215
	R2216	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Phg-CR-Tbg-L-nMeR-YSE-NH ₂	Sí	0,913	216
20	R2217	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-(D-Phg)-CR-Tbg-L-nMeR-YSE-NH ₂	Sí	114,1	217
25	R2218	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Ind-CR-Tbg-NH ₂	Sí	3	218
	R2219	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Phg-C-ABP-Tbg-NH ₂	Sí	>100000	219
30	R2220	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-(D-Phg)-C-ABP-Tbg-NH ₂	Sí	>100000	220
	R2221	[m-Xilil(1,4)]-(des-NH ₂)-C-P-Phg-C-(4-(aminometil)-bencimidamida	Sí	400,6	221

35 Tabla 6. Derivados optimizados adicionales de R2003

N.º de compuesto	Secuencia	Cíclico	Cl ₅₀ prom. (nM)	SEQ ID NO.
R2222	[Ciclo(1,10)]-CNYWSPWTAA	Sí	926	222
R2223	[m-Xilil(1,10)]-Ac-CN-nMeY-W-nMeS-PW-nMeT-AC-NH ₂	Sí	>100.000	223
R2224	[ciclo(1,10)]-Ac-CN-nMeY-W-nMeS-PW-nMeT-AC-NH ₂	Sí	>100.000	224
R2225	Ac-CNYWSPWTAc-NH ₂	No	8,1	225
R2226	Ac-CNYWSPWTaC-NH ₂	No	222	226
R2227	Ac-CNYWSPWtAc-NH ₂	No	323	227
R2228	Ac-CNYWSPwTAc-NH ₂	No	>10.600	228
R2229	Ac-CNYWSpWTAc-NH ₂	No	>14.300	229
R2230	Ac-CNYWsPWTAc-NH ₂	No	>6,580	230
R2231	Ac-CNYwSPWTAc-NH ₂	No	760	231
R2232	Ac-CNyWSPWTAc-NH ₂	No	>1,950	232
R2233	Ac-CnYWSPWTAc-NH ₂	No	305	233
R2234	Ac-CNYWSPWT-nMeA-C-NH ₂	No	2,7	234
R2235	Ac-CNYWSPW-nMeT-AC-NH ₂	No	101	235
R2236	Ac-CNYWSP-nMeW-TAC-NH ₂	No	>4900	236
R2237	Ac-CNYW-nMeS-PWTAc-NH ₂	No	>13900	237

R2238	Ac-CNY-nMeW-SPWTAC-NH2	No	>4520	238
R2239	Ac-CN-nMeY-WSPWTAC-NH2	No	>12.500	239

Tal como se usa en el presente documento, las abreviaturas tienen el siguiente significado: "Nvl" significa norvalina; "Phg" significa fenilglicina; "Tbg" significa terc-butilglicina; "nMe" indica la forma N-metilada de un aminoácido dado (por ejemplo, nMeS o nMeSer es la forma N-metilada de serina); "Asp (T)" significa ácido (S)-2-amino-3-(2H-tetrazol-5-il)-propanoico; "Phe(4-CH₂NH₂)" significa 4-aminometil-fenilalanina; "Phe(3-CH₂NH₂)" significa 3-aminometil-fenilalanina; "Cpg" significa ciclopentilglicina; "hLys" significa homolisina; "Pen" significa penicilamina; las abreviaturas de una letra para los aminoácidos que aparecen en minúsculas indican que el isómero D de ese aminoácido está presente (por ejemplo, "a" significa D-alanina); "Chg" significa ciclohexilglicina; "Sar" significa sarcosina; "η-ω-MeR" o "η-ω-Me-Arg" significa la forma metilada eta-omega de arginina; "Cppg" significa ciclopropilglicina; "(D)-Phg" significa D-fenilglicina; "OctG" significa octilglicina; "Nle" significa norleucina; "Aib" significa ácido aminoisobutírico; "azaTrp" significa aza-triptófano; "tranexámico" significa ácido tranexámico; "Acc" significa ácido 1-aminociclopropanocarboxílico; "AcPyr" o "Ac-pyr" significa ácido 4-aminotetrahydro-2H-piran-4-carboxílico; "Acbc" significa ácido 1-aminociclobutanocarboxílico; "(2-OMe)-Phg" significa 2-metoxi-fenilglicina; "(a-Me)-P" significa alfa-metil-prolina; "(a-Me)-Phg" significa ácido alfa-metil-fenilglicina; "(BODIPY-TMR)" significa ácido 6-((4,4-difluoro-1,3-dimetil-5-(4-metoxifenil)-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indaceno-2-propionil)amino)-hexanoico; "2APY" significa ácido 2-amino-4-(2-aminopiridin-4-il)butanoico; "2-SAc" significa ácido 2-tioacético; "3-Cl-Phe" significa 3-clorofenilalanina; "3-Cl-Tyr" significa 3-clorotirosina; "3-F-Tyr" significa 3-fluorotirosina; "4-BZA" significa ácido 2-amino-3-(4-carbamimidoilfenil)propanoico; "4-Cl-Phe" significa 4-clorofenilalanina; "4-F-Phe" significa 4-fluorofenilalanina; "5-Cl-Trp" significa 5-clorotriptófano; "5-F-Trp" significa 5-fluorotriptófano; "ABP" significa ácido 2-amino-3-(5-bromotiofen-2-il)propanoico; "Achc" significa ácido 1-aminociclohexanocarboxílico; "AEA" significa ácido 2-(2-aminoetoxi)acético; "AzaTrp" significa 7-azatriptófano; "azaTrp" significa aza-triptófano; "Aze" significa azetidina; "Cpg" significa ciclopentilglicina; "(ciclo-L)" significa ácido 1-aminociclopentanocarboxílico; "Dab" significa ácido (S)-4-diaminobutírico; "homoCys" significa homocisteína; "Ind" significa ácido (S)-2-amino-2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-acético; "Orn" significa ornitina; "PEG40K" significa polietilenglicol de 40.000 kD de tamaño; "des-NH₂" representa un grupo de amina amino-terminal faltante; "m-Lutidina" significa meta-lutidina; "Ac" significa acetilo; "NH₂" significa amina; "heptanoil" se refiere a una cadena de acilo que se compone de 7 átomos de carbono; "[m-xilil(x,y)]" se refiere al ligador de dibromoxileno entre las cisteínas y los identificadores numéricos, x e y, sitúan la posición de las cisteínas que participan en la ciclación; "o-xilil" significa orto-xililo; "p-xilil" significa para-xililo; y "[ciclo(x,y)]" se refiere al enlace disulfuro entre dos cisteínas (para formar un bucle cíclico) y los identificadores numéricos, x e y sitúan la posición de las cisteínas que participan en la ciclación. Todos los demás símbolos se refieren al código de aminoácidos de una letra convencional.

Ejemplo 8. Especificidad de inhibidores

Para determinar la especificidad de los inhibidores peptídicos, se realizó un ensayo de Cl₅₀, tal como se describe en el ejemplo 4, en una variedad de serina proteasas relacionadas con la calicreína plasmática humana. Las enzimas sometidas a prueba incluyen la calicreína plasmática de ratón (R&D Systems, Mineápolis, MN) y las enzimas humanas factor VIIa (Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN), factor Xa (Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN), factor XIa (Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN), factor XIIa (Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN), calicreína tisular KLK13 (R&D Systems, Mineápolis, MN), trombina (Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN) y plasmina (Enzyme Research Laboratories, South Bend, IN).

Se sometió a prueba cada enzima con los siguientes sustratos fluorogénicos específicos (disponibles de Bachem; Torrance, CA): calicreína plasmática de ratón (Pro-Phe-Arg-AMC), factor VIIa (Boc-Val-Pro-Arg-AMC), factor Xa (Boc-Gln-Gly-Arg-AMC), factor XIa (Boc-Gln-Gly-Arg-AMC), factor XIIa (Boc-Gln-Gly-Arg-AMC), KLK13 (Boc-Val-Pro-Arg-AMC), trombina (Boc-Val-Pro-Arg-AMC) y plasmina (Boc-Val-Leu-Lys-AMC). Se sometieron a ensayo los inhibidores peptídicos R2006, R2010, R2012, R2019, R2023, R2030, R2036, R2041, R2047, R2104 y R2051. En comparación con las calicreínas plasmáticas humana y de ratón, para las que los inhibidores mostraron valores de Cl₅₀ que oscilan desde 3,4 hasta 191 nM, ninguno de los inhibidores tenía un valor de Cl₅₀ por debajo de 4,8 μM y la mayoría estaba por encima de 100 μM. Por tanto, se descubrió que todos los inhibidores sometidos a prueba eran altamente selectivos para las calicreínas plasmáticas humana y de ratón (tablas 7 y 8).

Tabla 7. Especificidad de inhibidores

Péptido	SEQ ID NO	Cl ₅₀ (nM) de calicreína humana	Cl ₅₀ (nM) de calicreína de ratón	Cl ₅₀ (nM) de factor VIIa	Cl ₅₀ (nM) de factor Xa	Cl ₅₀ (nM) de factor XIa
R2006	6	25	42	>100.000	>7.000	>11.600
R2010	10	9,9	38,8	>100.000	>100.000	>15.000
R2012	12	8,3	11,3	NT	NT	>8.300

R2019	19	52,3	85,6	>100.000	>10.000	>9.100
R2023	23	19	47,3	>100.000	>7.000	>12.100
R2030	30	25	63,9	>100.000	>100.000	>10.400
R2036	36	6,4	12,8	>100.000	>7.000	>4.800
R2041	41	24,2	191	>17.900	>7.000	>5.400
R2047	47	32,3	36,7	>100.000	>100.000	>13.800
R2104	104	3,4	11,2	>100.000	>100.000	>5.000
R2051	51	12,9	19,3	>100.000	>100.000	>8.300

Tabla 8. Especificidad de inhibidores (continuación)

Péptido	SEQ ID NO	Cl ₅₀ (nM) de factor XIIa	Cl ₅₀ (nM) de KLK13	Cl ₅₀ (nM) de trombina	Cl ₅₀ (nM) de plasmina
R2006	6	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000
R2010	10	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000
R2012	12	NT	>100.000	NT	NT
R2019	19	>12.500	>16.400	>100.000	>21.000
R2023	23	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000
R2030	30	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000
R2036	36	>100.000	>100.000	>100.000	>19.500
R2041	41	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000
R2047	47	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000
R2104	104	>100.000	>100.000	>100.000	5.800
R2051	51	>100.000	>100.000	>100.000	>100.000

5 Ejemplo 9. Modelo animal de edema en la pata inducido por carragenanos

El modelo de edema en la pata inducido por carragenanos es un modelo animal aceptado en la técnica para el estudio de las composiciones de la presente divulgación. En este modelo, a los animales se les administra carragenanos y se cuantifica la posterior hinchazón en la pata mediante métodos descritos por Morris (2003, Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. *Methods in Mol. Biology* 225, 115-121). La hinchazón en la pata resultante se compara con la hinchazón después de los efectos de la administración de cualquiera de los inhibidores de calicreína divulgados en el presente documento. Los inhibidores activos de calicreína son aquellos que muestran menos inflamación en la pata que la inducida por carragenanos.

15 Ejemplo 10. Modelos animales con edema macular diabético

El edema macular diabético (EMD) es el engrosamiento de la retina en el área macular debido a retinopatía diabética (RD). Los pacientes con RD avanzada tienen niveles oculares anómalamente abundantes de proteínas del sistema calicreína-cinina en plasma. A los animales se les administran los inhibidores de calicreína divulgados en las tablas 1-6 y 9 para estudiar el efecto de los inhibidores para el tratamiento de EMD. Los modelos animales incluyen animales que tienen diabetes, retinopatía inducida por oxígeno (RIO) y/o ambos trastornos. La diabetes se induce cuando los animales reciben una inyección de estreptozotocina y la RIO se induce al exponer a animales neonatales a hiperoxia tal como se describe (Zhang *et al*, 2004, Plasminogen kringle 5 reduces vascular leakage in the retina in rat models of oxygen-induced retinopathy and diabetes. *Diabetologia* 47:124-131; Smith *et al*, 1994, Oxygen-induced retinopathy in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:101-111).

La permeabilidad vascular de la retina y el iris se determina midiendo el escape de albúmina desde los vasos sanguíneos hacia la retina y el iris usando azul de Evans tal como se describe (Zhang *et al*, 2004, Plasminogen kringle 5 reduces vascular leakage in the retina in rat models of oxygen-induced retinopathy and diabetes. *Diabetologia* 47:124-131; Gao *et al*, 2003, Kallikrein-binding protein inhibits retinal neovascularization and decreases vascular leakage, *Diabetologia* 46:689-698). La dosificación de los inhibidores de calicreína administrados a los animales se hace variar para estudiar los efectos dependientes de la dosis sobre la permeabilidad vascular.

Ejemplo 11. Modelos animales que usan ratones deficientes en INH C1

Se usan ratones en los que el gen INH C1 se seleccionó como diana mediante atrapamiento génico (ratones INH C1 -/-) se usan para estudiar el efecto de los inhibidores de calicreína divulgados en las tablas 1-6 y 9 sobre la permeabilidad vascular. Los ratones pueden tener diabetes inducida por una inyección de estreptozotocina y/o retinopatía inducida por oxígeno (RIO) inducida por exposición de ratones neonatales a hiperoxia. Para determinar los efectos sobre la permeabilidad vascular de la administración de los inhibidores de calicreína descritos en el presente documento, se inyecta colorante azul de Evans en los ratones después de la administración del inhibidor de calicreína. A los ratones se les administra el inhibidor de calicreína en una administración de dosis única o en un estudio de administración dependiente de la dosis. El inhibidor de calicreína se administra por vía intravenosa, por vía subcutánea o por vía intramuscular.

Ejemplo 12. Síntesis peptídica

Se sintetizaron péptidos usando métodos de Fmoc/tBu en fase sólida convencionales. La síntesis se realiza normalmente en un sintetizador de péptidos por microondas automatizado Liberty (CEM, Matthews, NC) usando protocolos convencionales con resina de Rink-amida, aunque también pueden usarse otros sintetizadores automatizados sin capacidad de microondas. Se obtuvieron todos los aminoácidos de fuentes comerciales a menos que se indique de otro modo. El reactivo de acoplamiento usado es hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1-H-benzotriazol-1il)-1,1,3,3-tetrametilaminio (HCTU) y la base es diisopropiletilamina (DIEA). Se escinden los péptidos de la resina con 95% de TFA, 2,5% de TIS y 2,5% de agua durante 3 horas y se aíslan mediante precipitación con éter. Se purifican los péptidos en bruto en una HPLC preparativa de fase inversa usando una columna C18, con un gradiente de acetonitrilo/agua 0,1% de TFA de desde al 20% hasta al 50% durante 30 minutos. Se recogen y liofilizan las fracciones que contienen el péptido puro y se analizan todos los péptidos mediante CL-EM.

Ejemplo 13. Ciclación con dibromoxileno

Se carga un matraz de 100 ml con acetonitrilo (12 ml) y agua (24 ml) y se desgasifica con argón durante aproximadamente 5 minutos. Se añaden péptido lineal (0,01 mmol) y bicarbonato de amonio 200 mM (6 ml) seguido de al menos un péptido (0,012 mmol) tal como, pero sin limitación, 1,3-bis(bromometil)benceno, 1,2-bis(bromometil)benceno, 1,4-bis(bromometil)benceno, 2,6-bis(bromometil)piridina, (E)-1,4-dibromobut-2-eno. Se agita la mezcla de reacción bajo argón a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas y se monitoriza mediante CL-EM. Después de completarse la reacción, se congela y se liofiliza la disolución de reacción. La purificación mediante HPLC del producto liofilizado en bruto seguido de liofilización de fracciones que contienen péptido puro da como resultado el producto ciclado final como un polvo blanco.

Ejemplo 14. Ciclación de bis(bromometil)bencenos sustituidos

Se carga un matraz de 100 ml con acetonitrilo (12 ml) y agua (24 ml) y se desgasifica con argón durante aproximadamente 5 minutos. Se añaden péptido lineal (0,01 mmol) y bicarbonato de amonio 200 mM (6 ml) seguido de un bis(bromometil)benceno sustituido (0,012 mmol). Se agita la mezcla de reacción bajo argón a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas y se monitoriza mediante CL-EM. Después de completarse la reacción, se congela y se liofiliza la disolución de reacción. La purificación mediante HPLC del producto liofilizado en bruto seguido de liofilización de fracciones que contienen péptido puro da como resultado el producto ciclado final como un polvo blanco.

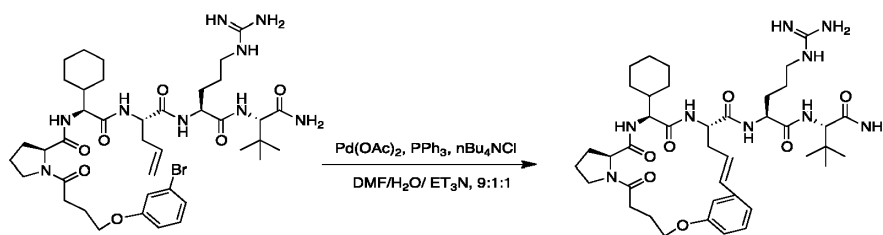
Ejemplo 15. Compuestos inhibidores obtenidos mediante procedimientos de ciclación alternativos

Se sintetizaron inhibidores de calicreína plasmática según una o más de las reacciones químicas descritas en las secciones A, B y C del presente ejemplo. Se sometieron a prueba los compuestos inhibidores resultantes para determinar la actividad inhibidora de calicreína plasmática tal como se describe en el ejemplo 4. Estos compuestos se enumeran en la tabla 9 junto con los datos de CI_{50} correspondientes obtenidos.

A. Reacción de Heck

Tal como se usa en el presente documento, el término "reacción de Heck" se refiere a una reacción química en la que un haluro insaturado (incluyendo, pero sin limitarse a un bromuro) reacciona con un grupo alqueno así como una base en presencia de un catalizador que comprende paladio, lo que da como resultado la formación de un alqueno sustituido (Mizoroki, T. *et al.*, Arylation of olefin with aryl iodide catalyzed by palladium. Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1971. 44 (2):p581). Para la síntesis de peptidomiméticos mediante reacción de Heck, se trataron 300 mg de resina que contiene péptido (0,59 mmol/g) con una disolución de DMF/H₂O/Et₃N (9:1:1; 10 ml), Pd(OAc)₂ (40 mg), PPh₃ (50 mg), (nBu)₄NCl (45 mg) en una porción. Se agitó la suspensión resultante durante la noche a 37°C y después de este tiempo, se lavó la resina secuencialmente con DMF, MeOH, DCM y se secó bajo un flujo de gas nitrógeno. Se escindió el péptido de la resina con TFA/H₂O (97:3) y se purificó mediante HPLC de fase inversa. Un ejemplo de una de esas reacciones se presenta en el esquema 4.

Esquema 4

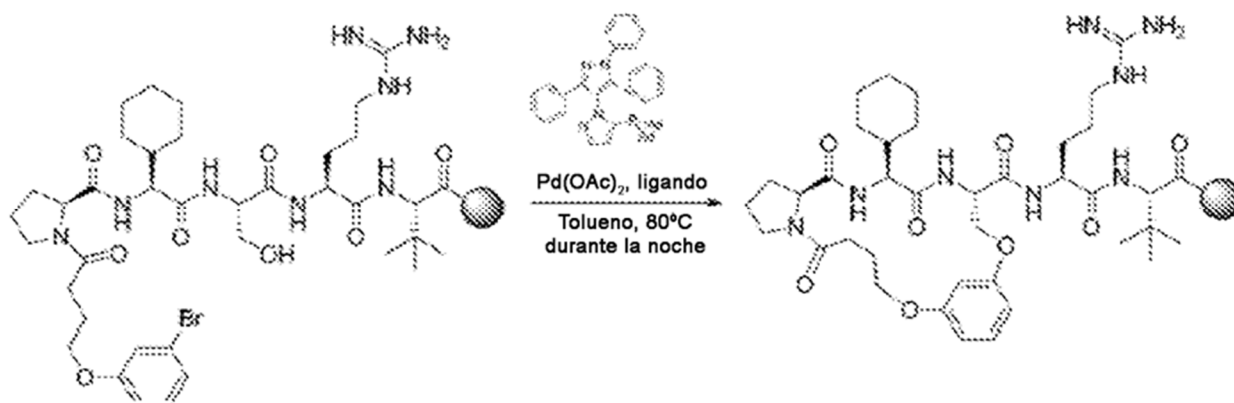


- 5 En algunas realizaciones, el doble enlace formado en la reacción está en la formación estereoquímica S. En algunas realizaciones, el doble enlace formado en la reacción está en la formación estereoquímica R.

B. reacción de Buchwald

- 10 Tal como se usa en el presente documento, el término “reacción de Buchwald” se refiere a una reacción química llevada a cabo durante la noche a una temperatura seleccionada entre 50°C y 150°C en la que un haluro (incluyendo, pero sin limitarse a un bromuro) se hace reaccionar con un grupo químico que comprende oxígeno en presencia de tolueno y un catalizador que comprende paladio. Para la síntesis de peptidomiméticos mediante reacción de Buchwald, se trató una resina que contiene péptido (0,6 mmol/g) con una disolución de tolueno (10 ml), Pd (OAc)₂ (12 mg),
 15 ligando (7,9 mg), Cs₂CO₃ (32,5 mg) en 10 ml de tolueno en una porción. Se agitó la disolución resultante a 80°C durante 24 h. Se lavó la resina secuencialmente con MeOH y DCM y se secó bajo un flujo de gas nitrógeno. Se escindió el péptido de la resina con TFA/H₂O (97:3) y se purificó mediante HPLC de fase inversa. Un ejemplo de una de esas reacciones se presenta en el esquema 5.

Esquema 5



C. Metátesis de olefinas

- 25 Tal como se usa en el presente documento, el término “metátesis de olefinas” se refiere a una reacción química que comprende la redistribución de alquenos a través de la ruptura y nueva formación de dobles enlaces carbono-carbono. Para la síntesis de peptidomiméticos mediante metátesis de olefinas, se añadieron resina que contiene péptido (0,6 mmol/g) y catalizador de Grubbs-Hoveyda de 2º generación (6,2 mg) en un recipiente de reacción y se purgó con
 30 flujo de gas nitrógeno durante 30 minutos. Luego se añadió dicloroetano anhidro (1 ml), se selló el recipiente y se agitó la suspensión a 80°C durante 40 h. Se lavó la resina con DCM y se secó bajo flujo de gas nitrógeno. Se escindió el péptido de la resina con TFA/H₂O (97:3) y se purificó mediante HPLC de fase inversa. Un ejemplo de una de esas reacciones se presenta en el esquema 6.

Esquema 6

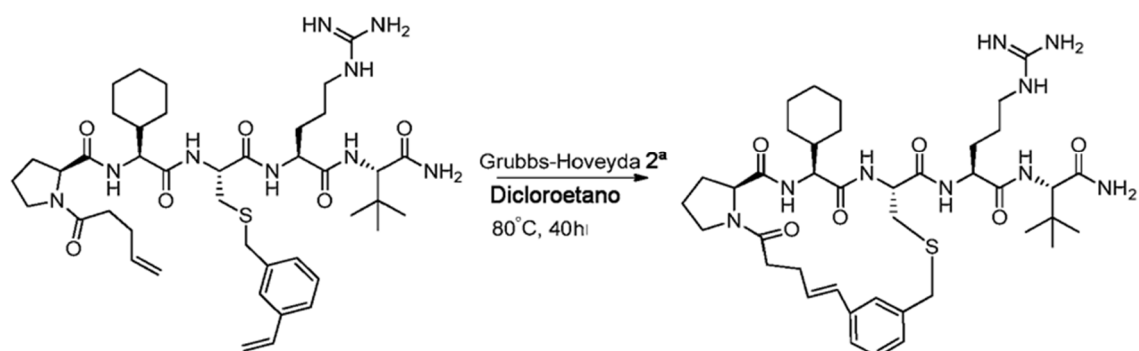
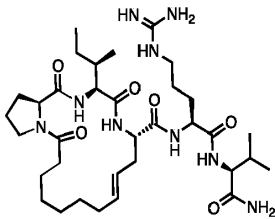
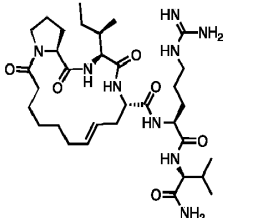
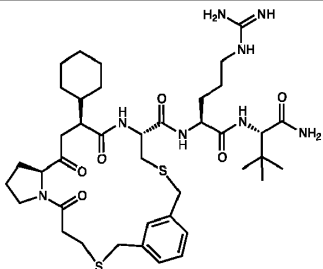
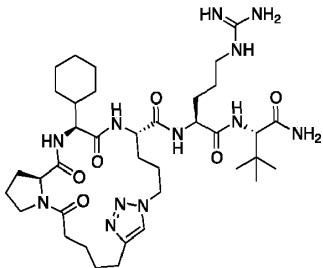
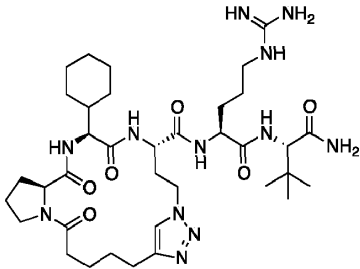
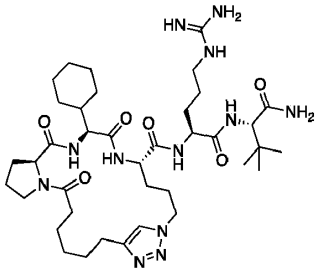
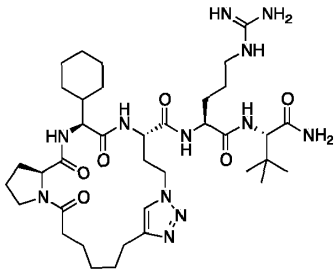
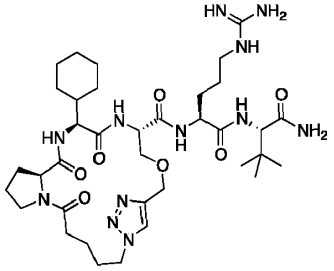
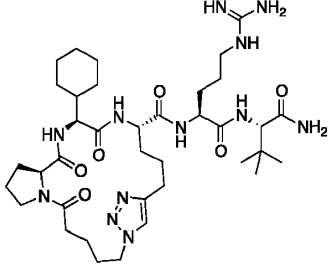
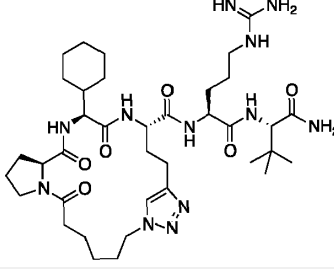
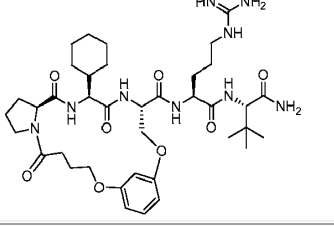
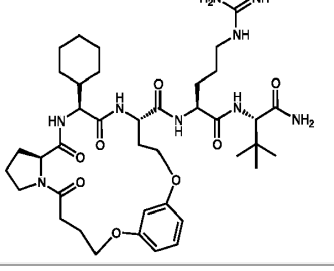


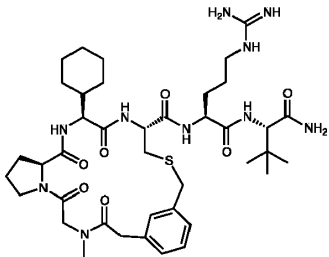
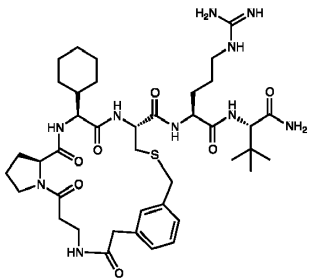
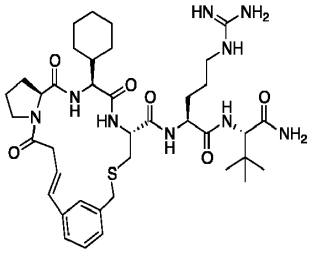
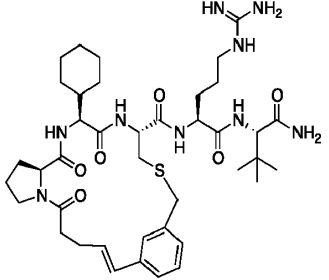
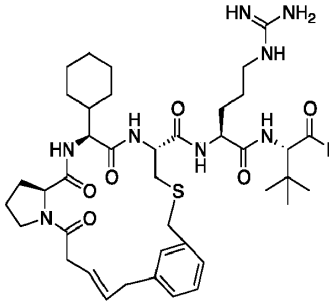
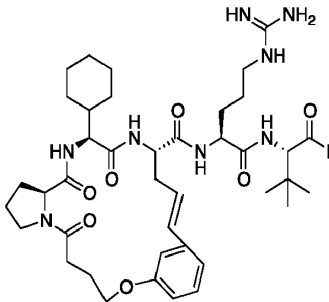
Tabla 9. Compuestos sintetizados usando procedimientos de ciclación adicionales

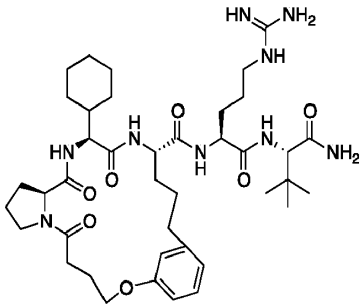
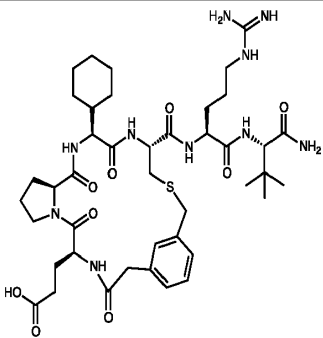
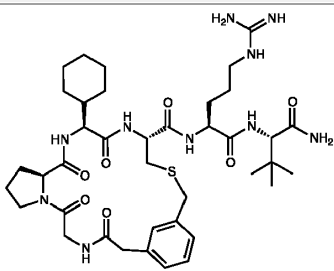
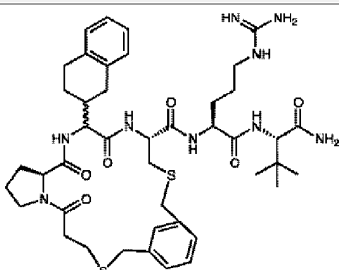
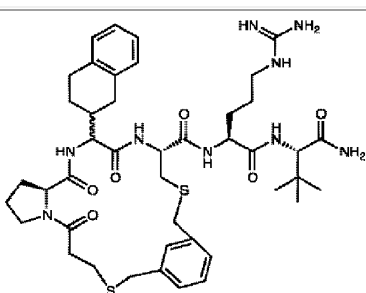
5

N.º de compuesto	Estructura	Cíclico	Cl ₅₀ prom. (nM)
R2240		Sí	>75.000
R2241		Sí	>75.000
R2242		Sí	>100.000
R2243		Sí	>50.000
R2244		Sí	>50.000

R2245		Sí	>50.000
R2246		Sí	>50.000
R2247		Sí	474
R2248		Sí	>100.000
R2249		Sí	>100.000
R2250		Sí	>100.000

R2251		Sí	>100.000
R2252		Sí	>100.000
R2253		Sí	>100.000
R2254		Sí	>100.000
R2255		Sí	>25.000
R2256		Sí	>100000

R2257		Sí	383,4
R2258		Sí	498
R2259		Sí	1456
R2260		Sí	4682
R2261		Sí	164,2
R2262		Sí	>100000

R2263		Sí	>100000
R2264		Sí	1103
R2265		Sí	39,2
R2266		Sí	118,4
R2267		Sí	12,8

Lista de secuencias

<110> RA PHARMACEUTICALS, INC.

5

<120> INHIBIDORES PEPTÍDICOS Y PEPTIDOMIMÉTICOS

<130> 2011.1001PCT

10

<140>

<141>

<150> 61/648.155
<151> 17-05-2012

5 <160> 245
<170> PatentIn versión 3.5

10 <210> 1
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 1
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Arg
1 5 10

20 <210> 2
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<400> 2
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Arg Tyr Ser Glu
1 5 10

30 <210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(11)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

45 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 3
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Arg
1 5 10

50 <210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(6)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 4
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Arg Tyr Ser Glu
5 1 5 10

<210> 5
<211> 13
<212> PRT
10 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(6)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

20 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 5
Met Cys Glu Thr Ile Cys Arg Val Leu Lys Tyr Ser Asp
25 1 5 10

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

35 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(6)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
40 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 6
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1 5

45 <210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 7
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1 5

60 <210> 8
<211> 8
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5

<220>

<223> Ac del extremo N-terminal

<220>

10 <221> misc_feature

<222> (2)..(6)

<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>

15 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 8

Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val

1 5

20 <210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>

30 <221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Nvl

<220>

35 <221> misc_feature

<222> (2)..(6)

<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>

40 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 9

Val Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val

1 5

45 <210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

50 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>

55 <221> misc_feature

<222> (2)..(6)

<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>

60 <221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Tbg

<220>

<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 10
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Gly
 1 5

5 <210> 11
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de trans-butenilo entre residuos

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 20

<400> 11
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 1 5

25 <210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 40 <222> (5)..(5)
 <223> Phg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

45 <400> 12
Met Cys Glu Ser Gly Cys Arg Val
 1 5

50 <210> 13
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Nvi

60 <220>
 <221> misc_feature

<222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 5 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Phg

 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Tbg

 <220>
 15 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 13
Val Cys Glu Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5

 20 <210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 30 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 35
 <400> 14
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Asn
 1 5

 <210> 15
 40 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 45 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 50 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 55
 <400> 15
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg
 1 5

 <210> 16
 <211> 8
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

10 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 16
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Ala
 1 5

15 <210> 17
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 17
Met Cys Glu Ser Ala Cys Arg Val
 1 5

35 <210> 18
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

50 <400> 18
Met Cys Glu Ala Ile Cys Arg Val
 1 5

55 <210> 19
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature

<222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 5 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> nMeS

 <220>
 10 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 19
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1 5

 15 <210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 25 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 30 <222> (3)..(3)
 <223> Asp(T)

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 35
 <400> 20
Met Cys Xaa Ser Ile Cys Arg Val
1 5

 <210> 21
 40 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 45 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 50 <223> Nvl

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 55 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 60 <223> Phe(4CH2NH2)

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

```

<400> 21
Val Cys Glu Ser Ile Cys Phe Val
1           5

5  <210> 22
    <211> 8
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

10 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

    <220>
    <221> MOD_RES
15 <222> (1)..(1)
    <223> Nvl

    <220>
    <221> misc_feature
20 <222> (2)..(6)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

    <220>
    <221> MOD_RES
25 <222> (7)..(7)
    <223> Phe(3CH2NH2)

    <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal
30

    <400> 22
Val Cys Glu Ser Ile Cys Phe Val
1           5

    <210> 23
35 <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
40 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

    <220>
    <223> Ac del extremo N-terminal

45 <220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

50 <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 23
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1           5

55 <210> 24
    <211> 8
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

60 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

```

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 5 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 10 <400> 24
 Met Cys Ala Ser Ile Cys Arg Val
 1 5

 <210> 25
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 20
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 25
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 25
 30 **Ala Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val**
 1 5

 <210> 26
 <211> 8
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> nMel

 50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 26
 55 **Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val**
 1 5

 <210> 27
 <211> 9
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético


```

5  <220>
    <221> misc_feature
    <222> (2)..(6)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

10 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (3)..(3)
    <223> nMeE

15 <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

15 <400> 27
    Met Cys Glu Glu Ser Ile Cys Arg Val
    1          5

20 <210> 28
    <211> 8
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

25 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>
    <221> misc_feature
    <222> (2)..(6)
    <223> ligador de hexiltetrazolil-dibromoxileno entre residuos

35 <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

35 <400> 28
    Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
    1          5

40 <210> 29
    <211> 8
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

45 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> Nvl

50 <220>
    <221> misc_feature
    <222> (2)..(6)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

55 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> hLys

60 <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 29

```

```

Val Cys Glu Ser Ile Cys Lys Val
1           5

<210> 30
<211> 8
5 <212> PRT
   <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
10

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Nvl
15

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(6)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
20

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Phg
25

<220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Tbg
30

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 30
Val Cys Glu Pro Gly Cys Arg Gly
35 1           5

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
40 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
   <221> MOD_RES
   <222> (1)..(1)
   <223> Nvl

50 <220>
   <221> MOD_RES
   <222> (2)..(2)
   <223> Pen

55 <220>
   <221> misc_feature
   <222> (2)..(6)
   <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
   <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 31

```

```

Val Xaa Glu Ser Ile Cys Arg Val
1           5

<210> 32
<211> 8
5 <212> PRT
   <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
10
<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Nvl
15
<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(6)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
20
<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Pen
25
<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 32
Val Cys Glu Ser Ile Xaa Arg Val
30 1           5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
35 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
   <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<221> MOD_RES
45 <222> (1)..(1)
   <223> Nvl

<220>
<221> misc_feature
50 <222> (2)..(6)
   <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
<221> MOD_RES
55 <222> (7)..(7)
   <223> hLys

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal
60
<400> 33
Val Cys Glu Ser Ile Cys Lys Val
1           5

```

```

    <210> 34
    <211> 8
    <212> PRT
5    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

10   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> Nvl

15   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> Pen

20   <220>
    <221> misc_feature
    <222> (2)..(6)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (6)..(6)
    <223> Pen

30   <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 34
    Val Xaa Glu Ser Ile Xaa Arg Val
    1           5

35   <210> 35
    <211> 8
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

40   <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

    <220>
45   <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> Nvl

    <220>
50   <221> misc_feature
    <222> (2)..(6)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

    <220>
55   <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 35
    Val Cys Glu Ser Ile Cys Arg Phe
    1           5

60   <210> 36
    <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

```

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<221> misc_feature
10 <222> (1)..(5)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
<221> MOD_RES
15 <222> (4)..(4)
<223> Phg

<220>
<221> MOD_RES
20 <222> (7)..(7)
<223> Tbg

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal
25

<400> 36
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
1 5

<210> 37
30 <211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
35 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

40 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(4)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

45 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 37
Cys Ser Ile Cys Arg Val
1 5

50 <210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
60 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<221> misc_feature

<222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 5 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 38
 Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Lys
 1 5

 10 <210> 39
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

 <220>
 <221> MOD_RES
 30 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 35 <400> 39
 Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5

 40 <210> 40
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 45 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 50 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 55 <400> 40
 Met Cys Glu Ser Ile Cys Lys Val
 1 5

 <210> 41
 <211> 7
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
 <223> heptanoílo del extremo N-terminal

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 10 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

15 <400> 41
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 1 5

<210> 42
 <211> 8
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de orto-xililo entre residuos

30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 42
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 35 1 5

<210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de para-xililo entre residuos

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 43
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 55 1 5

<210> 44
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 5 <223> ligador de mLutidina entre residuos

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 10 <400> 44
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1 5

 <210> 45
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 20
 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

 <220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 30 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 45
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu
1 5

 35 <210> 46
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal
 45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 50
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 46
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Arg
 55 **1 5**

 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia artificial

 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

5

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

10

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-Ala

15

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 47
Cys Ala Ser Ile Cys Arg Val

20 1 5

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Tbg

40

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Tbg

45

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

50

<400> 48
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly

 1 5

<210> 49
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60

<220>
<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 10 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 49
Cys Ile Cys Arg Val
 1 5

 15 <210> 50
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal
 25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Chg
 35
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 50
Met Cys Glu Ser Gly Cys Arg Val
 40 1 5

 <210> 51
 <211> 7
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 51

	Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
	1 5
	<210> 52
	<211> 7
5	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
	<220>
10	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
	<220>
	<223> Ac del extremo N-terminal
	<220>
15	<221> misc_feature
	<222> (1)..(5)
	<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
	<220>
20	<221> MOD_RES
	<222> (3)..(3)
	<223> Sar
	<220>
25	<221> MOD_RES
	<222> (4)..(4)
	<223> Phg
	<220>
30	<221> MOD_RES
	<222> (7)..(7)
	<223> Tbg
	<220>
35	<223> NH2 del extremo C-terminal
	<400> 52
	Cys Ala Xaa Gly Cys Arg Gly
	1 5
40	<210> 53
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
45	<220>
	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
	<220>
	<223> Ac del extremo N-terminal
50	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1)..(5)
	<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
55	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (4)..(4)
	<223> Phg
60	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (6)..(6)

<223> Phe(4CH₂NH₂)
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH₂ del extremo C-terminal
 10 <400> 53
 Cys Ala Ser Gly Cys Phe Gly
 1 5
 <210> 54
 15 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal
 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Nvl
 30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Arg metilada con eta-omega
 40 <220>
 <223> NH₂ del extremo C-terminal
 <400> 54
 Val Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 1 5
 45 <210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 55 <223> Ac del extremo N-terminal
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 60 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 <220>
 <223> NH₂ del extremo C-terminal

<400> 55
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Arg Tyr
 1 5 10

5 <210> 56
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

20 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 56
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Arg Tyr Ser
 25 1 5 10

<210> 57
 <211> 12
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

35 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

45 <400> 57
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val Leu Arg Tyr Ser Glu
 1 5 10

<210> 58
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

<220>
 55 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)

<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

<220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 15

<400> 58
Cys Ala Pro Gly Cys Arg Gly
 1 5

<210> 59
 20 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 30 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 35 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

<220>
 40 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 59
Cys Ala Ser Phe Cys Arg Gly
 1 5

45 <210> 60
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 55 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 60 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES

```

<222> (2)..(2)
<223> D-Ala

<220>
5 <221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> (D)Phg

<220>
10 <221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Tbg

<220>
15 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 60
  Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
  1             5

20 <210> 61
    <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

25 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
30 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
35

<220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> D-Ala
40

<220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Phg
45

<220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg
50

<220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 61
  Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
55  1             5

<210> 62
    <211> 7
    <212> PRT
60 <213> Secuencia artificial

<220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

```

	<220>
	<223> Ac del extremo N-terminal
5	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1)..(5)
	<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
10	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (2)..(2)
	<223> D-Ala
15	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (4)..(4)
	<223> Cppg
20	<220>
	<223> NH2 del extremo C-terminal
	<400> 62
	Cys Ala Ser Gly Cys Arg Val
	1 5
25	<210> 63
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
30	<220>
	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
	<220>
35	<223> Ac del extremo N-terminal
	<220>
	<221> misc_feature
	<222> (1)..(5)
40	<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (2)..(2)
45	<223> D-Ala
	<220>
	<223> NH2 del extremo C-terminal
50	<400> 63
	Cys Ala Ser Val Cys Arg Val
	1 5
	<210> 64
	<211> 7
55	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
60	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (1)..(1)

<223> (des NH2)Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 5 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 <220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala
 <220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (4)..(4)
 <223> Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 20 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 25
 <400> 64
 Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5
 <210> 65
 30 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal
 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Nle
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg
 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 65

Cys Leu Ser Gly Cys Arg Gly
1 5

5 <210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <223> heptanoílo del extremo N-terminal

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> (D)Phg

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

35 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 66
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
1 5

40 <210> 67
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
 <223> heptanoílo del extremo N-terminal

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)

<223> Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 10
 <400> 67
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5
 <210> 68
 15 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <223> heptanoílo del extremo N-terminal
 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> nMeS
 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 68
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5
 55 <210> 69
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> heptanoílo del extremo N-terminal

 <220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala

 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> nMeS

 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> (D)Phg

 <220>
 25 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

 <220>
 30 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 69
 Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5

 35 <210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 45 <223> Ac del extremo N-terminal

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 50
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala
 55
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg
 60
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Cppg
 65

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 70
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 5 1 5

 <210> 71
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 15 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

 <220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala

 <220>
 <221> MOD_RES
 30 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

 <220>
 <221> MOD_RES
 35 <222> (7)..(7)
 <223> Chg

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 40
 <400> 71
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5

 <210> 72
 45 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 55 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 60 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 72
Cys Ala Ala Ile Cys Arg Val
 1 5

5 <210> 73
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> OctG

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 73
Cys Gly Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5

45 <210> 74
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> nMeV

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 74
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 1 5

5 <210> 75
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

35 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 75
Cys Ala Ala Gly Cys Arg Gly
 1 5

40 <210> 76
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

<220>
 <221> MOD_RES

<222> (7)..(7)
 <223> Tbg

 <220>
 5 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 76
Cys Gly Ala Gly Cys Arg Gly
1 5

 10 <210> 77
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 20 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (5)..(5)
 <223> Cpg

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 30 <400> 77
Met Cys Glu Ser Gly Cys Arg Val
1 5

 35 <210> 78
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 40 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 45 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 50 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 55 <223> Aib

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 60 <223> Phg

 <220>
 <221> MOD_RES

<222> (7)..(7)
 <223> Tbg

 <220>
 5 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 78
 Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
 1 5
 10
 <210> 79
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 30 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala

 <220>
 35 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

 <220>
 40 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

 <220>
 45 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 79
 Cys Ala Ala Gly Cys Arg Gly
 1 5
 50
 <210> 80
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 60 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 <221> misc_feature

	<222> (1)..(5)
	<223> ligador de dibromoxileno entre residuos
5	<220> <221> MOD_RES <222> (2)..(2) <223> D-Ala
10	<220> <221> MOD_RES <222> (4)..(4) <223> Phg
15	<220> <221> MOD_RES <222> (6)..(6) <223> azaTrp
20	<220> <221> MOD_RES <222> (7)..(7) <223> Tbg
25	<220> <223> NH2 del extremo C-terminal
	<400> 80 Cys Ala Ser Gly Cys Trp Gly 1 5
30	<210> 81 <211> 6 <212> PRT <213> Secuencia artificial
35	<220> <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
40	<220> <221> MOD_RES <222> (1)..(1) <223> (des NH2)Cys
45	<220> <221> misc_feature <222> (1)..(5) <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
50	<220> <221> MOD_RES <222> (2)..(2) <223> Tranexámico
55	<220> <221> MOD_RES <222> (3)..(3) <223> (D)Phg
60	<220> <221> MOD_RES <222> (6)..(6) <223> Tbg
65	<220> <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 81
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 1 5

5 <210> 82
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Ala

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

40 <400> 82
Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
 1 5

45 <210> 83
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de orto-xililo entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)

<223> Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (5)..(5)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 10
 <400> 83
Cys Gly Cys Arg Gly
 1 5
 <210> 84
 15 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 25 <223> (des NH2)Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 30 <223> ligador de para-xililo entre residuos
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 35 <223> Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 40 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 45 <400> 84
Cys Gly Cys Arg Gly
 1 5
 <210> 85
 <211> 7
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 85
Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 1 5

5 <210> 86
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

20 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

20 <400> 86
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Glu Leu Arg Tyr Ser Glu
 1 5 10

25 <210> 87
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

40 <400> 87
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Glu
 1 5

45 <210> 88
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

60 <400> 88
Met Cys Glu Ser Asn Cys Arg Val
 1 5

60 <210> 89

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

15 <400> 89
Met Cys Glu Tyr Ile Cys Arg Val
1 5

<210> 90
 20 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 30 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 35 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 40 <223> Tranexámico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 45 <223> Phg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 50 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 90
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
1 5

<210> 91
 <211> 7
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 20 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

<220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 30

<400> 91
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
 1 5

<210> 92
 35 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 40 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 45 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 55 <222> (2)..(2)
 <223> Acc

<220>
 <221> MOD_RES
 60 <222> (4)..(4)
 <223> (D)Phg

<220>
 <221> MOD_RES
 65 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

5 <400> 92
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
 1 5

<210> 93
 <211> 7
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Acc

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 93
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
 45 1 5

<210> 94
 <211> 7
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos


```

5    <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> AcPyr

10   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> (D)Phg

15   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

20   <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

20   <400> 94
    Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
    1           5

25   <210> 95
    <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

30   <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

35   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> (des NH2)Cys

40   <220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

45   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> AcPyr

50   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Phg

55   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

60   <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

60   <400> 95
    Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
    1           5

    <210> 96
    <211> 7

```

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 10 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 15 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 20 <223> Acbc

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 25 <223> (D)Phg

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 30 <223> Tbg

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 35 <400> 96
 Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
 1 5

 <210> 97
 <211> 7
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 50
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 55
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Acbc
 60
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg
 65

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 5
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 97
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
 10 1 5
 <210> 98
 <211> 12
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> (D)Phg
 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 45 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 98
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Glu
 50 1 5 10
 <210> 99
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 60 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 20
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 99
 Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Glu
 25 1 5 10
 <210> 100
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> AcPyr
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg
 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 100

Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
1 5

5 <210> 101
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> nMeC

25 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 101
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1 5

30 <210> 102
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de 3-metoxi-dibromoxileno entre residuos

45 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 102
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
1 5

50 <210> 103
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 103
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Arg
1 5 10

60 <210> 104
 <211> 13

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

10 <400> 104
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5 10

<210> 105
<211> 13
15 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

20 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 105
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ser Glu Ile Cys
25 1 5 10

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
30 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

35 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

40 <400> 106
Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 107
45 <211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
50 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 107
Met Ser Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Ser Ser Ala
1 5 10

<210> 108
<211> 13
60 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(11)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

10 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 108
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5 10

15 <210> 109
<211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(13)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

30 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 109
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ser Glu Ile Cys
1 5 10

35 <210> 110
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

45 <400> 110
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser
1 5 10

50 <210> 111
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

55 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

60 <400> 111
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys
1 5 10

<210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 10 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 112
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu
 1 5 10
 15
 <210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 25 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 113
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr
 1 5
 30
 <210> 114
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 40
 <400> 114
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp
 1 5
 45
 <210> 115
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 50 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 55
 <400> 115
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro
 1 5

 <210> 116
 <211> 12
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

10 <400> 116
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5 10

<210> 117
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

20 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 117
Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5 10

25 <210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

35 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

40 <400> 118
Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5 10

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 119

Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5

5 <210> 120
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

15 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 120
Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5

20 <210> 121
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 121
Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5

35 <210> 122
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 122
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ser Glu Ile
1 5 10

50 <210> 123
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 123
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ser Glu
1 5 10

5 <210> 124
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

15 <400> 124
Met Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ser
1 5 10

<210> 125
<211> 12
20 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

30 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(10)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 125
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys Ser Ala
1 5 10

40 <210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

50 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 126
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys
55 1 5 10

<210> 127
<211> 10
<212> PRT
60 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
5 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

10 <400> 127
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Ala
1 5 10

<210> 128
<211> 10
15 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
25 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 128
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
1 5 10

30 <210> 129
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
40 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 129
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Ala Glu Cys
45 1 5 10

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
50 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

60 <400> 130

Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Ala Thr Glu Cys
1 5 10

5 <210> 131
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

15 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

Cys Asn Tyr Trp Ala Pro Trp Thr Glu Cys
1 5 10

20 <210> 132
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

Cys Asn Tyr Ala Ser Pro Trp Thr Glu Cys
1 5 10

35 <210> 133
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

Cys Asn Ala Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys
1 5 10

55 <210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

5 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 134
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Cys
 1 5

10 <210> 135
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

20 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 135
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr
 25 1 5

<210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

35 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

45 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 136
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

50 <210> 137
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 137
Cys Asn Tyr Trp Ser Ala Trp Thr Glu Cys
 1 5 10

5 <210> 138
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

15 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 138
Ala Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Glu Cys
 1 5 10

20 <210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 35 <223> Nvl

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

40 <400> 139
Val Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

45 <210> 140
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Nvl

60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 140

Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Val
1 5 10

5 <210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Nvl

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Nvl

25 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 141
Val Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Val
1 5 10

30 <210> 142
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> cíclico

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 142
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
1 5 10

55 <210> 143
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 143
Ala Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 5 1 5 10

<210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 20

<400> 144
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Ala
 1 5 10

25 <210> 145
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

35 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 145
Ala Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Ala
 40 1 5 10

<210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 146
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Ala Ala Cys
 1 5 10

<210> 147
 <211> 7
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> (des NH2)Cys

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> AcPyr

20 <220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Chg

25 <220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> AzaTrp

30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Tbg

35 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 147
Cys Xaa Ala Gly Cys Trp Gly
1 5

40 <210> 148
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
<223> heptanoílo del extremo N-terminal

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

55 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> D-Ala

60 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> nMeS

65

```

5    <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Chg

10   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

    <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

15   <400> 148
    Cys Ala Ser Gly Cys Arg Gly
    1          5

    <210> 149
    <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> (des NH2)Cys

30   <220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> Ciclo-L

40   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> (D)Phg

45   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

50   <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 149
55   Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
    1          5

    <210> 150
    <211> 7
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

```

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ciclo-L

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Phg

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg

30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 150
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
1 5

35 <210> 151
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> AEA

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

65 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 151
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 5 1 5

<210> 152
 <211> 6
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

35 <220>
 <223> 3,3-dimetilbutan-2-amina del extremo C-terminal

<400> 152
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg
 40 1 5

<210> 153
 <211> 6
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg
 5
 <220>
 <223> OH del extremo C-terminal
 <400> 153
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg
 10 1 5
 <210> 154
 <211> 6
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 2-SAc
 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 154
Xaa Ser Ile Cys Arg Val
 35 1 5
 <210> 155
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 55 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 155
Cys Ser Ile Cys Arg Val
 60 1 5
 <210> 156
 <211> 6
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 10
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de para-xililo entre residuos
 15
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 156
Cys Ser Ile Cys Arg Val
 20 **1 5**
 <210> 157
 <211> 9
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de 1,3,5-dibromoxileno entre residuos
 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg
 50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(9)
 <223> ligador de 1,3,5-dibromoxileno entre residuos
 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Tbg
 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 157

Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Pro Cys
 1 5

5 <210> 158
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de 1,3,5-dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(11)
 <223> ligador de 1,3,5-dibromoxileno entre residuos

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

45 <400> 158
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Cys
 1 5 10

50 <210> 159
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Chg

<220>

<221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

5 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 159
Gly Cys Arg Val Ala Cys
 1 5

10 <210> 160
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

20 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 25 <223> Chg

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 30 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

35 <400> 160
Gly Cys Arg Val Pro Cys
 1 5

<210> 161
 <211> 6
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de orto-xililo entre residuos

55 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 161
Cys Ser Ile Cys Arg Val
 60 1 5

<210> 162

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 20 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

<220>
 <223> 2-amino-3,3-dimetilbutan-1-ol del extremo C-terminal
 30

<400> 162
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg
 1 5

<210> 163
 35 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 40 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(6)
 45 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 50 <223> nMeR

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 163
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 1 5

<210> 164
 <211> 6
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

<220>
 <221> MOD_RES
 20 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 25

<400> 164
Cys Ser Gly Cys Arg Gly
1 5

<210> 165
 30 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 40 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 45 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 50 <223> nMeS

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 55 <223> Chg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 60 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

65 <400> 165

Cys Ser Gly Cys Arg Gly
1 5

5 <210> 166
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> AcPyr

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> 4-BZA

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 166
Cys Xaa Ala Gly Cys Xaa Val
1 5

45 <210> 167
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

10 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

10 <400> 167
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
 1 5

15 <210> 168
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ciclo-L

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

50 <400> 168
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 1 5

55 <210> 169
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

```

5  <220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

10 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> Ciclo-L

15 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Chg

20 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

25 <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 169
    Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly
    1           5

30 <210> 170
    <211> 10
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

35 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

    <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> (des NH2)Cys

40 <220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

45 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> Ciclo-L

50 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Chg

55 <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

60 <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 170

```

Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr
 1 5 10

<210> 171
 <211> 7
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> D-Arg

25 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 171
 Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val
 30 1 5

<210> 172
 <211> 7
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Orn

55 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 172
 Cys Glu Ser Ile Cys Xaa Val
 60 1 5

<210> 173
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 10 <223> cíclico

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 15 <223> Aib

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 20 <223> Chg

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 25 <223> Tbg

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 30 <400> 173
 Ala Cys Pro Xaa Ala Gly Asp Arg Gly
 1 5

 <210> 174
 <211> 6
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 40
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 45
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 50
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ciclo-L
 55
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg
 60
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 65

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 174
 Cys Xaa Gly Cys Lys Gly
 5 1 5

 <210> 175
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ciclo-L

 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg

 35 <220>
 <223> OH del extremo C-terminal

 <400> 175
 Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Val
 40 1 5

 <210> 176
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 55 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 60 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

10

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 176
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 1 5

15

<210> 177
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Acc

40

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

45

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

50

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 177
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 1 5

55

<210> 178
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ciclo-L
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg
 20
 <220>
 <223> NHCH3 del extremo C-terminal
 <400> 178
Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Val
 25 1 5
 <210> 179
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(5)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> AcPyr
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Chg
 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> 3-BZA
 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 179

Cys Xaa Ala Gly Cys Xaa Val
1 5

5 <210> 180
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> (a-Me)P

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 180
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
1 5

45 <210> 181
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Acbc

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 5 <223> Chg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 10 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

15 <400> 181
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 1 5

<210> 182
 <211> 6
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> AcPyr

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 182
Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 55 1 5

<210> 183
 <211> 6
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 5 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 10 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 15 <223> Chg

<220>
 <223> OH del extremo C-terminal

20 <400> 183
 Cys Pro Gly Cys Arg Val
 1 5

<210> 184
 <211> 6
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

45 <220>
 <223> NHCH3 del extremo C-terminal

<400> 184
 Cys Pro Gly Cys Arg Val
 50 1 5

<210> 185
 <211> 7
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
5 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
10 <223> AcPyr

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
15 <223> Chg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
20 <223> 4-BZA-N-hexilcarbamato

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

25 <400> 185
    Cys Xaa Ala Gly Cys Xaa Val
    1           5

<210> 186
<211> 6
30 <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
35

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
40 <223> (des NH2)Cys

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(4)
45 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
50 <223> Chg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
55 <223> R(N-omega hexilcarbamato)

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
60 <223> Tbg

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 186

```

Cys Pro Gly Cys Arg Gly
1 5

5 <210> 187
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> (D)Phg

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

35 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 187
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
1 5

40 <210> 188
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

5 <400> 188
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
1 5

<210> 189
<211> 6
10 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> (des NH2)Cys

20 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(4)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> (2-OMe)Phg

30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Tbg

35 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 189
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
40 1 5

<210> 190
<211> 12
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> (des NH2)Cys

55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Aib

```

5    <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Chg

10   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

    <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal
    <400> 190
    Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Glu
15   1          5          10

    <210> 191
    <211> 12
    <212> PRT
20   <213> Secuencia artificial

    <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (1)..(1)
    <223> (des NH2)Cys

30   <220>
    <221> misc_feature
    <222> (1)..(5)
    <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> Aib

40   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (4)..(4)
    <223> Chg

45   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (7)..(7)
    <223> Tbg

50   <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (12)..(12)
    <223> E(PEG40K)

55   <220>
    <223> NH2 del extremo C-terminal

    <400> 191
    Cys Xaa Ala Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Glu
60   1          5          10

    <210> 192
    <211> 6
    <212> PRT

```

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> (des NH2)Cys

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(4)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> (alfa-Me)Phg

20 <220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Tbg

25 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 192
Cys Pro Gly Cys Arg Gly

30 **1 5**

<210> 193
<211> 8
<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
<223> BODIPY-TMR del extremo N-terminal

<220>
<221> misc_feature

45 <222> (2)..(6)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

50 <400> 193
Met Cys Glu Ser Ile Cys Arg Val

1 5

<210> 194
<211> 6
<212> PRT

55 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aze

 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

 <220>
 25 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 194
 Cys Xaa Gly Cys Arg Gly
 1 5

 30 <210> 195
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 40 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

 <220>
 55 <223> OH del extremo C-terminal

 <400> 195
 Cys Pro Gly Cys Arg
 1 5

 60 <210> 196
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

```

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
5 <221> MOD_RES
  <222> (1)..(1)
  <223> (des NH2)Cys

<220>
10 <221> misc_feature
   <222> (1)..(4)
   <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
15 <221> MOD_RES
   <222> (3)..(3)
   <223> Chg

<220>
20 <223> (S)-2,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina del extremo C-terminal

<400> 196
  Cys Pro Gly Cys Arg
    1             5

25 <210> 197
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

30 <220>
    <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
35 <221> MOD_RES
   <222> (1)..(1)
   <223> (des NH2)Cys

<220>
40 <221> misc_feature
   <222> (1)..(4)
   <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
45 <221> MOD_RES
   <222> (3)..(3)
   <223> Chg

<220>
50 <223> 2-metil-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)propan-1-amina del extremo C-terminal

<400> 197
  Cys Pro Gly Cys Arg
    1             5

55 <210> 198
    <211> 6
    <212> PRT
    <213> Secuencia artificial

<220>
60 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
    <221> MOD_RES

```

<222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> 2-APY

 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

 <220>
 25 <223> NH2 del extremo C-terminal

 <400> 198
 Cys Pro Gly Cys Xaa Gly
 1 5

 30 <210> 199
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

 <220>
 40 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

 <220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> (alfa-Me)Pro

 <220>
 55 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

 <220>
 60 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

 <220>
 65 <223> NH2 del extremo C-terminal

```

<400> 199
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
1           5

<210> 200
5 <211> 6
  <212> PRT
  <213> Secuencia artificial

  <220>
10 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

  <220>
  <221> MOD_RES
  <222> (1)..(1)
15 <223> (des NH2)Cys

  <220>
  <221> misc_feature
  <222> (1)..(4)
20 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

  <220>
  <221> MOD_RES
  <222> (2)..(2)
25 <223> (alfa-Me)Pro

  <220>
  <221> MOD_RES
  <222> (3)..(3)
30 <223> (D)Phg

  <220>
  <221> MOD_RES
  <222> (6)..(6)
35 <223> Tbg

  <220>
  <223> NH2 del extremo C-terminal

40 <400> 200
   Cys Pro Gly Cys Arg Gly
     1           5

   <210> 201
   <211> 6
45 <212> PRT
   <213> Secuencia artificial

   <220>
   <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
50

   <220>
   <221> MOD_RES
   <222> (1)..(1)
   <223> (des NH2)Cys
55

   <220>
   <221> misc_feature
   <222> (1)..(4)
   <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
60

   <220>
   <221> MOD_RES
   <222> (3)..(3)

```

<223> Chg
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 10 <400> 201
 Cys Glu Gly Cys Arg Gly
 1 5
 <210> 202
 15 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 30 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 <220>
 <221> MOD_RES
 35 <222> (3)..(3)
 <223> Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 40 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> OH del extremo C-terminal
 45 <400> 202
 Cys Pro Gly Cys Arg Gly Leu
 1 5
 <210> 203
 50 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 60 <223> (des NH2)Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)

<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (3)..(3)
 <223> Chg

<220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (5)..(5)
 <223> ácido 2-amino-4-(6-aminopiridin-3-il)butanoico

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 15

<400> 203
Cys Pro Gly Cys Xaa Val
 1 5

<210> 204
 <211> 6
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 30 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 35 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 40 <223> (nMe)Ile

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 45 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 50

<400> 204
Cys Ser Ile Cys Arg Gly
 1 5

<210> 205
 <211> 6
 55 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 60

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)

<223> (des NH2)Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 5 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 <220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (3)..(3)
 <223> Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (5)..(5)
 <223> 4-Cl-Phe
 <220>
 <221> MOD_RES
 20 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 25 <400> 205
 Cys Pro Gly Cys Phe Gly
 1 5
 <210> 206
 30 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 40 <223> (des NH2)Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 45 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 50 <223> (D)Phg
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 55 <223> 4-Cl-Phe
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 60 <223> Tbg
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 65 <400> 206

Cys Pro Gly Cys Phe Gly
1 5

5 <210> 207
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> 3-Cl-Phe

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

45 <400> 207
Cys Pro Gly Cys Phe Gly
1 5

50 <210> 208
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

65 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

70 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> (D)Phg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 5 <223> 3-Cl-Phe

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 10 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

15 <400> 208
Cys Pro Gly Cys Phe Gly
 1 5

<210> 209
 <211> 6
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> 5-Cl-Trp

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 209
Cys Pro Gly Cys Trp Gly
 55 1 5

<210> 210
 <211> 6
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 5 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 10 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 15 <223> (D)Phg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 20 <223> 5-Cl-Trp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 25 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

30 <400> 210
 Cys Pro Gly Cys Trp Gly
 1 5

<210> 211
 <211> 6
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Dab

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

65

```

<220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 211
Cys Pro Gly Cys Xaa Gly
5 1 5

<210> 212
<211> 6
<212> PRT
10 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> (des NH2)Cys

20 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(4)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> (D)Phg

30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Dab

35 <220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Tbg

40 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 212
Cys Pro Gly Cys Xaa Gly
45 1 5

<210> 213
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
55 <221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> (des NH2)Cys

<220>
60 <221> misc_feature
<222> (1)..(4)
<223> ligador de dibromoxileno entre residuos

```

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> E(PEG40K)
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 15
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 213
Cys Glu Gly Cys Arg Gly
 20 1 5
 <210> 214
 <211> 6
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Chg
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 50 <220>
 <223> OH del extremo C-terminal
 <400> 214
Cys Pro Gly Cys Arg Gly
 55 1 5
 <210> 215
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 5
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> (4-amidino)Phe
 20
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 215
Cys Pro Gly Cys Phe Val
 25 1 5
 <210> 216
 <211> 11
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 40 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg
 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> nMeR
 60 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 216

Cys Pro Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Glu
1 5 10

5 <210> 217
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> (D)Phg

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> nMeR

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

Cys Pro Gly Cys Arg Gly Leu Arg Tyr Ser Glu
1 5 10

45 <400> 217
 <210> 218
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Ind

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 5 <223> Tbg

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

10 <400> 218
Cys Pro Xaa Cys Arg Gly
1 5

<210> 219
 <211> 6
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> ABP

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Tbg

45 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 219
Cys Pro Gly Cys Xaa Gly
 50 **1 5**

<210> 220
 <211> 6
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 5 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 10 <223> (D)Phg

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 15 <223> ABP

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 20 <223> Tbg

 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 25 <400> 220
 Cys Pro Gly Cys Xaa Gly
 1 5

 <210> 221
 <211> 4
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> (des NH2)Cys
 40
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(4)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Phg
 50
 <220>
 <223> 4-(aminometil)bencimidamida del extremo C-terminal

 <400> 221
 <210> 222
 <211> 10
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 5 <223> cíclico

<400> 222
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Ala
 1 5 10

10 <210> 223
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

20 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> ligador de dibromoxileno entre residuos

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> nMeY

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> nMeS

40 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

45 <400> 223
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

50 <210> 224
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

60 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> cíclico

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> nMeY
 5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> nMeS
 10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> nMeT
 15 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 224
 Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10
 20 <210> 225
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 30 <223> Ac del extremo N-terminal
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 35 <223> D-Cys
 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 40 <400> 225
 Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10
 <210> 226
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 50 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal
 <220>
 55 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> D-Ala
 <220>
 60 <223> NH2 del extremo C-terminal
 <400> 226

	Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
	1 5 10
	<210> 227
	<211> 10
5	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
	<220>
10	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
	<220>
	<223> Ac del extremo N-terminal
	<220>
15	<221> MOD_RES
	<222> (8)..(8)
	<223> D-Thr
	<220>
20	<223> NH2 del extremo C-terminal
	<400> 227
	Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
	1 5 10
25	<210> 228
	<211> 10
	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
30	<220>
	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
	<220>
	<223> Ac del extremo N-terminal
35	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (7)..(7)
	<223> D-Trp
40	<220>
	<223> NH2 del extremo C-terminal
	<400> 228
	Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
45	1 5 10
	<210> 229
	<211> 10
	<212> PRT
50	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
55	<220>
	<223> Ac del extremo N-terminal
	<220>
	<221> MOD_RES
60	<222> (6)..(6)
	<223> D-Pro

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 229
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 5 1 5 10

<210> 230
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

15 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>
 <221> MOD_RES
 20 <222> (5)..(5)
 <223> D-Ser

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal
 25

<400> 230
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

30 <210> 231
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> D-Trp

45 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 231
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 50 1 5 10

<210> 232
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 60 <223> Ac del extremo N-terminal

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> D-Tyr

5 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 232
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

10 <210> 233
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

20 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> D-Asn

30 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

30 <400> 233
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

35 <210> 234
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

40 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> nMeA

50 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

50 <400> 234
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

55 <210> 235
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> nMeT

10 <220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 235
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

15 <210> 236
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> nMeW

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 236
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 35 1 5 10

<210> 237
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
 <223> Ac del extremo N-terminal

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> nMeS

<220>
 <223> NH2 del extremo C-terminal

55 <400> 237
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
 1 5 10

60 <210> 238
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<223> Ac del extremo N-terminal

10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> nMeW

15 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 238
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
1 5 10

20 <210> 239
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<223> Ac del extremo N-terminal

30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> nMeY

35 <220>
<223> NH2 del extremo C-terminal

<400> 239
Cys Asn Tyr Trp Ser Pro Trp Thr Ala Cys
1 5 10

40 <210> 240
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

50 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(3)
<223> Residuos unidos por un resto de formación de puente

55 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(4)
<223> Cualquier aminoácido

60 <220>
<221> MOD_RES
<222> (8)..(8)
<223> Cualquier aminoácido o ausente

- <220>
<223> véase la memoria descriptiva tal como se presenta para la descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas
- 5 <400> 240
Cys Xaa Xaa Xaa Cys Arg Val Xaa
1 5
- <210> 241
<211> 6
10 <212> PRT
<213> Secuencia artificial
- <220>
<223> Descripción de secuencia artificial: etiqueta de 6xHis sintética
- 15 <400> 241
His His His His His His
1 5
- <210> 242
20 <211> 13
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- <220>
25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
- <220>
<223> el extremo N-terminal puede ser H, grupos acilos que contienen una cadena de hidrocarburos saturada o insaturada, lineal o ramificada desde 1 hasta 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG o hidroxialquil-almidón
- 30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
35 <223> Met, norvalina, Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Val, Lys, N-metil-metionina, N-metil-valina, N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-terc-
- <220>
<221> MOD_RES
40 <222> (1)..(1)
<223> continuación a partir de lo anterior; butilglicina, N-metil-leucina, N-metil-fenilglicina, N-metil-isoleucina, N-metil-triptófano, N-metil-7-azatriptófano, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-treonina, N-metil-tirosina,
- <220>
45 <221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-valina, N-metil-lisina o ausente
- <220>
50 <221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Cys, penicilamina, des-amino-Cys, D-Cys, homocisteína o Tyr
- <220>
55 <221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, D-Glu, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-
- 60 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)

<223> continuación a partir de lo anterior; treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr,

5 <220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

10 <223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-tirosina, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahydro-2H-piran-4-carboxílico, ácido

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

15 <223> continuación a partir de lo anterior; aminoisobutírico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, Glu, Gly, N-metil-glutamato, ácido 2-amino pentanoico, ácido 2-amino hexanoico, ácido 2-amino heptanoico, ácido 2-amino octanoico, ácido 2-amino nonanoico, ácido 2-amino decanoico,

<220>

20 <221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> continuación a partir de lo anterior; ácido 2-amino undecanoico, ácido 2-amino dodecanoico, octilglicina, ácido tranexámico, ácido aminovalérico, ácido 2-(2-aminoetoxi)acético o ausente

25 <220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ala, N-metil-alanina, Gly, sarcosina, Ser, N-metil-serina, Pro, Thr, N-metil-treonina, Val, N-metilvalina, Ile, N-metil-isoleucina, Phe, N-metil-fenilalanina, 4-fluorofenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-norleucina,

30 <220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> continuación a partir de lo anterior; ácido pipecólico, 2-carboxilazetidina o ausente

35 <220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

40 <223> Ala, Phe, Ile, N-metil-isoleucina, Asn, Val, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, fenilglicina, D-fenilglicina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico,

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

45 <223> continuación a partir de lo anterior; 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina o 4-isopropil-fenilglicina

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

50 <223> Cys, D-Cys, homocisteína o penicilamina

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

55 <223> Arg, Arg metilada con eta-omega, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-

60 <220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> continuación a partir de lo anterior; aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I o un compuesto de fórmula II

65 <220>

<221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Ala, Ile, N-metilisoleucina, ciclohexilglicina, ciclopentilglicina, Glu, Phe, Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina,

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> continuación a partir de lo anterior; 5-fluoroisoleucina, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina o (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Leu, Asn, Pro, Sar, N-metil-alanina, N-metil-leucina o ausente

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Cys, D-Cys, penicilamina, Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Pro, Arg, Arg metilada con eta-omega, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)

20

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> continuación a partir de lo anterior; fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I, un compuesto de fórmula II o ausente

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Cys, D-Cys, penicilamina o ausente

30

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Ser, Cys, D-Cys, homocisteína, penicilamina o ausente

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Asp, Glu, Cys, D-Cys, penicilamina o ausente

40

<220>
 <223> el extremo C-terminal puede ser -NH₂, -N(CH₃)₂, -N-piperidina, -N-pirrolidina, -N-N'-alquilpiperazina

45

<220>
 <223> véase la memoria descriptiva tal como se presenta para la descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas

50

<400> 242
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

55

1 5 10

<210> 243
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

60

<220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido cíclico sintético

65

<220>

<223> el extremo N-terminal puede ser H, grupos acilos que contienen una cadena de hidrocarburos saturada o insaturada, lineal o ramificada desde 1 hasta 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG o hidroxialquil-almidón

- 5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Met, norvalina, Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Lys, los derivados N-metilados de estos aminoácidos o ausente
- 10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Cys, penicilamina, des-aminoCys, D-Cys o homocisteína
- 15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, D-Glu, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metilserina, Thr, D-Thr, N-metil-
- 20 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> continuación a partir de lo anterior; treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr,
- 25 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-tirosina, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahidro-2H-piran-4-carboxílico, ácido
- 30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-tirosina, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico, ácido 1-aminociclobutanocarboxílico, ácido 1-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminotetrahidro-2H-piran-4-carboxílico, ácido
- 35 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> continuación a partir de lo anterior; aminoisobutírico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-tetrazol-5-il)propanoico, Glu, Gly, N-metil-glutamato, ácido 2-amino pentanoico, ácido 2-amino hexanoico, ácido 2-amino heptanoico, ácido 2-amino octanoico, ácido 2-amino nonanoico, ácido 2-amino decanoico,
- 40 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> continuación a partir de lo anterior; ácido 2-amino undecanoico, ácido 2-amino dodecanoico, octilglicina, ácido tranexámico, ácido aminovalérico, ácido 2-(2-aminoetoxi)acético o ausente
- 45 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> continuación a partir de lo anterior; ácido 2-amino undecanoico, ácido 2-amino dodecanoico, octilglicina, ácido tranexámico, ácido aminovalérico, ácido 2-(2-aminoetoxi)acético o ausente
- 50 <220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Ala, N-metil-alanina, Gly, sarcosina, Ser, N-metil-serina, Pro, Thr, N-metil-treonina, Val, N-metil-valina, Ile, N-metil-isoleucina, Phe, N-metil-fenilalanina, 4-fluorofenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-norleucina,
- 55 <220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> continuación a partir de lo anterior; ácido pipecólico, 2-carboxilazetidina o ausente
- 60 <220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Ala, Phe, Ile, N-metil-isoleucina, Asn, Val, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, fenilglicina, D-fenilglicina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico,
- 65 <220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> Ala, Phe, Ile, N-metil-isoleucina, Asn, Val, ciclopentilglicina, ciclohexilglicina, ciclopropilglicina, fenilglicina, D-fenilglicina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico,

- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 5 <223> continuación a partir de lo anterior; 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina, 5-fluoroisoleucina, 4-metil-fenilglicina, 4-etil-fenilglicina o 4-isopropil-fenilglicina
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 10 <223> Cys, D-Cys, homocisteína o penicilamina
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 15 <223> Arg, Arg metilada con eta-omega, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-
- <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> continuación a partir de lo anterior; aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I o un compuesto de fórmula II
- 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Ala, Ile, N-metilisoleucina, ciclohexilglicina, ciclopentilglicina, Glu, Phe, Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, hexafluoroleucina, 3-fluorovalina, ácido 2-amino-4,4-difluoro-3-metilbutanoico, 3-fluoro-isoleucina, 4-fluoroisoleucina,
- 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> continuación a partir de lo anterior; 5-fluoroisoleucina, (S)-leucinol, (S)-valinol, (S)-terc-leucinol, (R)-3-metilbutan-2-amina, (S)-2-metil-1-fenilpropan-1-amina o (S)-N,2-dimetil-1-(piridin-2-il)propan-1-amina
- 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 40 <223> Leu, Asn, Pro, Sar, N-metil-alanina, N-metil-leucina o ausente
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 45 <223> Cys, D-Cys, penicilamina, Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Pro, Arg, Arg metilada con eta-omega, Lys, homolisina, ácido (S)-2-amino-5-(3-metilguanidino)pentanoico, ácido (S)-2-amino-3-(4-(aminometil)
- <220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> continuación a partir de lo anterior; fenil)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(3-(aminometil)fenil)propanoico, 7-azatriptófano, ácido (S)-2-amino-4-(2-aminobenzo[d]oxazol-5-il)butanoico, un compuesto de fórmula I, un compuesto de fórmula II o ausente
- 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Phe, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, Cys, D-Cys, penicilamina o
- 60 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 65 <223> Ser, Cys, D-Cys, homocisteína, penicilamina o ausente

- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Asp, Glu, Cys, D-Cys, penicilamina o ausente
- 5
- <220>
 <223> el extremo C-terminal puede ser -NH₂, -N(CH₃)₂, -N-piperidina, -N-pirrolidina, -N-N'-alquilpiperazina
- 10
- <220>
 <223> véase la memoria descriptiva tal como se presenta para la descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas
- <400> 243
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10
- 15
- <210> 244
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 20
- <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
- 25
- <220>
 <223> el extremo N-terminal puede ser H, grupos acilos que contienen una cadena de hidrocarburos saturada o insaturada, lineal o ramificada desde 1 hasta 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG o hidroxialquil-almidón
- 30
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Met, norvalina Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Val, Lys, N-metil-metionina, N-metil-norvalina, N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-terc-
- 35
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> continuación a partir de lo anterior; butilglicina, N-metil-leucina, N-metil-fenilglicina, N-metil-isoleucina, N-metiltriptófano, -metil-7-azatriptófano, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-treonina, N-metil-
- 40
- tirosina,
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-valina, N-metil-lisina o ausente
- 45
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> sarcosina, Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, homocisteína, norvalina, D-norvalina, N-metil-norvalina, Ser, D-Ser, N-metil-serina, penicilamina o ausente
- 50
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Asn, N-metil-asparagina, Gln, N-metil-glutamina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, 4-
- 55
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> continuación a partir de lo anterior; fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr o Lys
- 60
- <220>
- 65

	<221> MOD_RES
	<222> (4)..(4)
	<223> Phe, N-metil-fenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina o Ala
5	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (5)..(5)
10	<223> Ala, N-metil-alanina, Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluoro-triptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico o ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico
	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (6)..(6)
15	<223> Ser, N-metil-serina, Thr, N-metil-treonina o Ala
	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (7)..(7)
20	<223> N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-serina, Pro, N-metil-treonina, N-metil-valina, N-metil-isoleucina, N-metil-leucina, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-tirosina, Leu o Ala
	<220>
	<221> MOD_RES
25	<222> (8)..(8)
	<223> Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico, 4-fluorofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina,
30	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (8)..(8)
	<223> continuación a partir de lo anterior; 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina, Ala o ausente
35	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (9)..(9)
	<223> Thr, N-metil-treonina, terc-butilglicina, Ser, N-metil-serina, Asn, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-
40	3-(1,2,4-
	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (9)..(9)
45	<223> continuación a partir de lo anterior; oxadiazol-3-il)propanoico o ausente
	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (10)..(10)
50	<223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina, Pro, D-
	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (10)..(10)
55	<223> continuación a partir de lo anterior; Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina,
60	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (10)..(10)
	<223> continuación a partir de lo anterior; Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína o ausente
65	<220>

<221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina,
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 10 <223> continuación a partir de lo anterior; Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr,
 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-tirosina o ausente
 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-treonina,
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> continuación a partir de lo anterior; Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> continuación a partir de lo anterior; tirosina, fenilglicina, ciclohexilglicina o ausente
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, homocisteína, penicilamina, Arg, Ala o ausente
 40
 <220>
 <223> el extremo C-terminal puede ser -NH₂, -NR₁ (en el que R₁ es cualquier grupo alquilo cíclico o cualquier grupo alquilo lineal), PEG o hidroxialquil-almidón
 45
 <220>
 <223> véase la memoria descriptiva tal como se presenta para la descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas
 50
 <400> 244
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10
 <210> 245
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 60 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
 <220>
 <223> el extremo N-terminal puede ser H, grupos acilos que contienen una cadena de hidrocarburos saturada o insaturada, lineal o ramificada desde 1 hasta 20 átomos de carbono, amidas, carbamatos, ureas, PEG o hidroxialquil-almidón
 65

- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 5 <223> Met, norvalina Ala, Gly, Ser, Val, terc-butilglicina, Leu, fenilglicina, Ile, Pro, Trp, 7-azatriptófano, Phe, 4-fluorofenilalanina, Thr, Tyr, Val, Lys, N-metil-metionina, N-metil-norvalina, N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-terc-
- <220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (1)..(1)
 <223> continuación a partir de lo anterior; butilglicina, N-metil-leucina, N-metil-fenilglicina, N-metil-isoleucina, N-metiltriptófano, N-metil-7-azatriptófano, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-treonina, N-metil-tirosina,
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 15 <223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-valina, N-metil-lisina o ausente
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 20 <223> Asn, N-metil-asparagina, Gln, N-metil-glutamina, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico, 4-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 30 <223> continuación a partir de lo anterior; fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr o Lys
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 35 <223> Phe, N-metil-fenilalanina, 4-clorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3-clorotirosina, 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina o Ala
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 40 <223> Ala, N-metil-alanina, Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluoro-triptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico o ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 45 <223> Ser, N-metil-serina, Thr, N-metil-treonina o Ala
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 50 <223> N-metil-alanina, sarcosina, N-metil-serina, Pro, N-metil-treonina, N-metil-valina, N-metil-isoleucina, N-metil-leucina, N-metil-fenilalanina, N-metil-4-fluorofenilalanina, N-metil-tirosina, Leu o Ala
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 55 <223> Trp, N-metil-triptófano, 7-azatriptófano, 5-fluorotriptófano, 5-clorotriptófano, ácido (S)-2-amino-3-(5-fluoro-1H-indazol-3-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1H-indazol-3-il)propanoico, 4-fluorofenilalanina, 4-clorofenilalanina, 3-clorotirosina,
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 65 <223> continuación a partir de lo anterior; 3-fluorotirosina, Tyr, N-metil-tirosina, Ala o ausente

- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína, Thr, N-metil-treonina, D-Thr, terc-butilglicina, Ser, Asn, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(oxazol-5-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> continuación a partir de lo anterior; 2-il)propanoico, ácido (S)-2-amino-3-(1,2,4-oxadiazol-3-il)propanoico o ausente
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> continuación a partir de lo anterior; treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> continuación a partir de lo anterior; triptófano, Tyr, D-Tyr, N-metil-tirosina, Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína o ausente
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> continuación a partir de lo anterior; treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, y
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> continuación a partir de lo anterior; N-metil-tirosina Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína o ausente
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Ala, D-Ala, N-metil-alanina, Glu, N-metil-glutamato, D-Glu, Gly, sarcosina, norleucina, Lys, D-Lys, Asn, D-Asn, Arg, D-Arg, Phe, D-Phe, N-metil-fenilalanina, Gln, D-Gln, Asp, D-Asp, Ser, D-Ser, N-metil-serina, Thr, D-Thr, N-metil-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> continuación a partir de lo anterior; treonina, Pro, D-Pro, Leu, D-Leu, N-metil-leucina, Ile, D-Ile, N-metil-isoleucina, Val, D-Val, N-metil-valina, terc-butilglicina, D-terc-butilglicina, N-metil-terc-butilglicina, Trp, D-Trp, N-metil-triptófano, Tyr, D-Tyr, N-
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)

<223> continuación a partir de lo anterior; metil-tirosina, fenilglicina, y ciclohexilglicina, Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, penicilamina, homocisteína o ausente

<220>

5 <221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Cys, D-Cys, N-metil-cisteína, homocisteína, penicilamina, Arg, Ala o ausente

<220>

10 <223> el extremo C-terminal puede ser -NH₂, -NR₁ (en el que R₁ es cualquier grupo alquilo cíclico o cualquier grupo alquilo lineal), PEG o hidroxialquil-almidón

<220>

15 <223> véase la memoria descriptiva tal como se presenta para la descripción detallada de sustituciones y realizaciones preferidas

<400> 245

Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

20

-
- The figure displays 19 chemical structures, labeled I through XIX, representing various repeating units for polymers. These structures are based on heterocyclic and heterobicyclic systems, where the heteroatoms (X and Y) can be nitrogen (N) or sulfur (S). The structures are arranged in a grid-like fashion:
- I, II, III:** Structures based on a 1,3,5-trisubstituted benzene ring with heteroatoms X and Y.
 - IV, V, VI:** Structures based on a 1,3,5-trisubstituted benzene ring with heteroatoms X and Y, showing different substitution patterns.
 - VII, VIII, IX:** Structures based on a 1,3,5-trisubstituted benzene ring with heteroatoms X and Y, showing different substitution patterns.
 - X, XI, XII, XIII:** Structures based on a 1,3,5-trisubstituted benzene ring with heteroatoms X and Y, showing different substitution patterns.
 - XIV, XV, XVI, XVII:** Structures based on a 1,3,5-trisubstituted benzene ring with heteroatoms X and Y, showing different substitution patterns.
 - XVIII, XIX:** Structures based on a 1,3,5-trisubstituted benzene ring with heteroatoms X and Y, showing different substitution patterns.

8. Inhibidor de la caliceína plasmática según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en un método para el tratamiento o la prevención de padecer angioedema hereditario en un sujeto que lo necesite.

comprendiendo dicho método administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho inhibidor, en el que opcionalmente se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de más de un inhibidor de serina proteasa.

- 5 9. Inhibidor para su uso según la reivindicación 8, en el que dicho método se caracteriza porque se administra más de un inhibidor de calicreína plasmática según la reivindicación 1.
10. Inhibidor para su uso según la reivindicación 9, en el que
- 10 (a) la administración se selecciona del grupo que consiste en oral, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica e intravítrea;
- (b) el inhibidor de la calicreína plasmática se conjuga con un polímero soluble en agua,
- 15 en el que opcionalmente el polímero soluble en agua es un polímero hidrófilo,
- en el que, opcionalmente, el polímero hidrófilo se selecciona del grupo que consiste en homopolímeros de poli(óxido de alquileo), polipropilenglicoles, polioles polioxietilenados, y copolímeros de los mismos,
- 20 en el que además opcionalmente el polímero soluble en agua es polietilenglicol (PEG).
11. Composición farmacéutica que comprende un péptido o péptidomimético según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 12. Péptido o péptidomimético según la reivindicación 1,
- en el que el péptido o péptidomimético comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, 12, 10, 51, 23, 41, 6, 30 y 47 que tienen una CI_{50} de menos de 50 nM contra calicreína humana en el que dicho péptido o péptidomimético es cíclico opcionalmente
- 30 (i) teniendo una CI_{50} de menos de 10 nM contra calicreína humana y comprendiendo una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, 12 y 10; o
- (ii) teniendo una CI_{50} de menos de 50 nM contra calicreína humana y de ratón y comprendiendo una
- 35 secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 36, 12, 10, 51 y 23.
13. Péptido o péptidomimético según la reivindicación 1,
- en el que dicho péptido o péptidomimético comprende al menos un reemplazo de enlace peptídico, siendo
- 40 dicho al menos un reemplazo de enlace peptídico por un resto no peptídico, en el que opcionalmente el resto no peptídico se selecciona del grupo que consiste en tioamida, sulfonamida, sulfonato, fosfonamida, fosfonato fosfotioato, fosfinato, alcano, 1 ó 2 hidroxietileno, dihidroxietileno, enlace sencillo C-C (alcano), doble enlace C-C (alqueno), triple enlace C-C (alquino), enlace C-O (metileno xilo), enlace O-N o N-O, triazol, hidrazida, urea, cetona, enlace de uretano, (di)haloalqueno, metilmercapto, metilnamino, trifluoroetilamino, hidrazida
- 45 y amidoxilo.