

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 940**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10	(2006.01)
A61K 38/12	(2006.01)
A61K 38/16	(2006.01)
A61K 9/06	(2006.01)
A61K 9/20	(2006.01)
A61P 25/28	(2006.01)
A61P 31/18	(2006.01)
C07K 14/47	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.04.2014 PCT/DE2014/000203**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.11.2014 WO14177127**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.04.2014 E 14730065 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019 EP 2991664**

54 Título: **Agentes para la prevención y el tratamiento de enfermedades secundarias al VIH y otras infecciones víricas**

30 Prioridad:

30.04.2013 DE 102013007405
26.09.2013 DE 102013016002
12.03.2014 DE 102014003262

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.04.2020

73 Titular/es:

FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH (100.0%)
52425 Jülich, DE

72 Inventor/es:

FUNKE, SUSANNE, AILEEN;
WILLBOLD, DIETER;
SCHAAL, HEINER y
WIDERA, MAREK

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 755 940 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

Agentes para la prevención y el tratamiento de enfermedades secundarias al VIH y otras infecciones víricas

5 La invención se refiere al campo de la prevención y el tratamiento de la infección por VIH y otras infecciones víricas.

Estado de la técnica

10 El virus de la inmunodeficiencia humana, de forma abreviada VIH, pertenece a la familia de los retrovirus y al género de los lentivirus. Una infección por VIH no tratada por norma general conduce al SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida, en inglés acquired immunodeficiency syndrome) después de un periodo de incubación de duración variable, generalmente de varios años. En los últimos 30 años, la propagación del VIH se ha convertido en una pandemia que, de acuerdo con estimaciones de la organización ONUSIDA, se ha cobrado hasta la fecha alrededor de 28 millones de vidas. A finales de 2010, se estima que 34 millones de personas en todo el mundo estaban infectadas por el VIH. La enfermedad todavía no se puede curar - excepto en un caso individual descrito - y requiere un tratamiento de por vida en el que los síntomas relacionados con la infección se suprimen al inhibir la replicación del VIH.

20 Según la directriz germano-austríaca para el tratamiento antirretroviral de la infección por el VIH, el objetivo de los tratamientos antirretrovirales (TAR) es suprimir los síntomas relacionados con la infección mediante la inhibición de la replicación del VIH y reducir la progresión de la enfermedad. El pronóstico de los pacientes infectados por el VIH ha mejorado considerablemente gracias al tratamiento antirretroviral altamente activo (HAART). Hoy en día, los pacientes alcanzan una edad relativamente elevada. Sin embargo, el tratamiento es necesario de por vida, ya que la infección vírica por lo general solo se suprime, pero no se cura. La tensión física y psicológica causada por la medicación a largo plazo y las infecciones frecuentes es alta, al igual que el costo de años de HAART. El HAART reduce ciertamente el riesgo de infección por VIH al disminuir el título viral. Sin embargo, la infección no se puede evitar. Por lo tanto, es deseable prevenir la infección.

30 El virus de la IH se transmite a través del contacto con líquidos corporales como la sangre, el semen, las secreciones vaginales y la leche materna. Las vías más comunes de infección son las relaciones sexuales íntimas sin preservativo y el uso de jeringas no estériles para el consumo de drogas intravenosas. A pesar de la gran importancia del fluido espermático en la transmisión sexual del VIH, todavía se sabe poco sobre las vías de transmisión.

35 En 2007 se informó de la presencia en el semen de proteínas amiloidógenas, denominadas SEVI (potenciador de la infección vírica derivado del semen, por sus siglas en inglés), que podían amplificar la infección por VIH de diversos tipos de células en cultivos celulares y modelos tisulares. Estos pueden desempeñar un papel importante en la transmisión sexual del VIH, ya que pueden facilitar el contacto entre el virus y la célula hospedadora (Münch et al., Cell 131, 1059-1071).

40 Por el contrario, debería ser posible prevenir la transmisión sexual del VIH evitando la interacción entre las células del SEVI y el VIH. Ya se han presentado los primeros enfoques experimentales para la prevención de la infección por VIH mediada por SEVI mediante el uso de sustancias de unión a amiloides en cultivo celular (Capule et al., JACS 134, 905-908). El desarrollo aún no está muy avanzado.

45 De la publicación de Sievers et al. (Nature (2011). 475, 96-100) se conocen péptidos D que se unen a un hexapéptido VQIVYK (residuos 306-311) de la proteína Tau asociada a la demencia de Alzheimer. Por esta publicación también se conoce un péptido L que también se une a un hexapéptido GGVLVN de la proteína ²⁴⁸PAP²⁸⁶ del esperma humano. La formación de fibrillas se pudo evitar en cada caso específicamente con el péptido D para la proteína Tau y con el péptido L para la proteína PAP.

50 Wojtowicz et al. informaron en 2002 que las fibrillas de amiloides sintéticas de A β ₁₋₄₀ y A β ₁₋₄₂ pueden aumentar la infectividad del virus VIH-1 (The Journal of Biological Chemistry (2002). 277, 35019-35024). Las fibrillas de A β causan de 5 a 20 veces más eficacia de infección de las células indicadoras que expresan el receptor CD4 del VIH-1.

55 El documento WO 2005/060352 A2 describe un extracto acuoso que se obtiene de una corteza de canela y que presenta actividad antiviral.

El documento WO 2010/041252 A2 desvela el uso de un extracto de canela en el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados a amiloide.

60 El documento US 2007/231331 A1 se refiere a enfermedades neurodegenerativas y a un grupo de polipéptidos de unión a presenilina, proteína G y c-Src y a su aplicación en la enfermedad de Alzheimer.

65 El documento WO 02/081505 A2 desvela péptidos que se unen con una alta afinidad de unión al péptido beta-amiloide, como por ejemplo el péptido D3, y el uso de estos péptidos para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

El documento DE 10 2012 102 999 A1 se refiere a un procedimiento para el tratamiento de la sangre, los hemoderivados y/u órganos en condiciones *in vitro* y *ex vivo*, en el que se eliminan oligómeros de beta-amiloideos usando péptidos específicos.

- 5 El documento DE 10 2012 102 998 A1 desvela polímeros que comprenden al menos dos sustancias (monómeros) que se unen a oligómeros de beta-amiloideos.

10 El documento EP 2 179 722 A1 proporciona una composición farmacéutica para la administración tópica para prevenir la transmisión sexual de la infección por VIH, comprendiendo la composición un compuesto de la clase de las catequinas.

15 El documento US 2010/204085 A1 proporciona compuestos peptídicos inhibidores que pueden usarse en composiciones farmacéuticas y procedimientos para el tratamiento de enfermedades asociadas a la agregación de polipéptidos.

El documento WO 2011/133929 A2 proporciona procedimientos para tratar o prevenir una infección de transmisión sexual de una persona. Los procedimientos comprenden la administración de una sustancia que se une al SEVI (potenciador de la infección vírica derivado del semen).

20 **Objetivo de la invención**

25 El objetivo de la invención es proporcionar agentes para la prevención y el tratamiento del VIH y otras infecciones víricas. Las fibrillas de SEVI en el semen son particularmente, pero no exclusivamente, moléculas diana adecuadas para la prevención de una infección. En las personas ya infectadas, el desarrollo de daños neurológicos asociados al VIH en el sistema nervioso central (por ejemplo, "demencia asociada al VIH", DAV) debe evitarse o ralentizarse su progresión, en particular, pero no exclusivamente, mediante la reducción del número de fibrillas de amiloideos (consistentes, por ejemplo, en A β), que se producen cada vez con mayor frecuencia en el SNC con el aumento de la edad, reduciendo así la eficacia de la infección del VIH en la medida de lo posible.

30 **Solución para el objetivo**

35 El objetivo de la invención se consigue por un agente que contiene al menos una sustancia que es adecuada para inhibir la formación de fibrillas de amiloideos que aumentan la eficacia de la infección del VIH, o para destruir las mismas, para su aplicación en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de una demencia asociada al VIH (DAV) en el que, gracias a la sustancia, se evita la formación de fibrillas de amiloideos que aumentan la eficacia de la infección vírica o se destruyen las mismas, caracterizado por al menos un péptido como sustancia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo compuesto por las SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2 y/o SEQ ID NO: 3 y/o SEQ ID NO: 4 y/o SEQ ID NO: 5 y/o SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 7 y/o SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 9 y/o SEQ ID NO: 10 y/o SEQ ID NO: 11 y en donde al menos un péptido está compuesto en esencia o por completo por D-aminoácidos.

40 **Descripción de la invención**

45 El objetivo se consigue con un agente de acuerdo con la reivindicación que es adecuado para evitar la formación de fibrillas de amiloideos o para destruir las mismas.

El agente contiene al menos una sustancia que es adecuada para inhibir la formación de fibrillas de amiloideos que aumentan la eficacia de la infección del VIH, o para destruir las mismas, para el tratamiento y/o la prevención de la infección vírica respectiva.

50 Son agentes adecuados, por ejemplo, las sustancias que contienen al menos una secuencia de aminoácidos desarrollada o inventada para la prevención y el tratamiento de la demencia de Alzheimer, al evitarse la formación de fibrillas de amiloideos asociadas a ello por péptidos con esta secuencia o al destruirse las mismas. Estos sirven entonces para el tratamiento y/o la prevención de VIH y/u otras infecciones víricas. En particular, sirven para prevenir la propagación adicional de la infección en el cuerpo, por ejemplo en el SNC, o para tratar la misma.

55 Los agentes de acuerdo con la invención reducen la infectividad de los virus aumentada por las fibrillas de amiloideos (por ejemplo, fibrillas de A β ₁₋₄₂ o de SEVI) preferiblemente por completo. Reducen la infectividad de los virus, aumentada por las fibrillas, tal como, por ejemplo, de VIH, en particular un 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 60 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o un 100 %, pudiendo adoptarse cualquier valor intermedio. Los agentes de acuerdo con la invención, a saber, los péptidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 1-11, reducen la infectividad aumentada en al menos un 50 %, preferiblemente al menos un 60 %, de forma particularmente preferible al menos un 70 % y de forma muy particularmente preferible al menos un 80 % o un 90 % al 65 menos un 95 %.

- Se ha reconocido que los tratamientos antirretrovirales anteriores para las infecciones por el VIH por norma general tienen efectos secundarios graves. Los principios activos contra la transcriptasa inversa también causan, de forma negativa, una alteración de otras moléculas vitales, por ejemplo, la ADN polimerasa. Esto afecta en especial a las células que se dividen con frecuencia, tales como las células de los folículos pilosos y las células de la hematopoyesis (anemias). Los agentes de acuerdo con la invención, a saber, los péptidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 1-11, no tienen ningún efecto secundario sobre la ADN polimerasa o sobre las células del sistema hematopoyético.
- En comparación con esto, gracias a los agentes de acuerdo con la invención se da lugar, ventajosamente, a que los péptidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 1-11 contenidos en su interior estén exentos de efectos secundarios. Estos dan lugar, ventajosamente, a que solo se evite la formación de las fibrillas de amiloides con un efecto de aumento de las infecciones, o que se destruyan las mismas, pero no los monómeros que las componen y que posiblemente presenten una función positiva en el cuerpo.
- Un agente desvelado, que contiene al menos una sustancia que es adecuada para inhibir la formación en particular de fibrillas A β o para destruir las mismas se usa para el tratamiento y/o la prevención del VIH y/u otras infecciones víricas así como enfermedades secundarias, tales como, por ejemplo, DAV, en el que se evita la formación de fibrillas de amiloides que aumentan la eficacia de la infección vírica o se destruyen las mismas.
- Un agente desvelado, que contiene al menos un péptido con una secuencia de aminoácidos que es adecuado para la prevención y el tratamiento de fibrillas asociadas a la demencia de Alzheimer y/u homólogos, fragmentos y partes de la misma, se usa para el tratamiento y/o la prevención del VIH y/u otras infecciones víricas así como enfermedades secundarias, tales como, por ejemplo, DAV, en el que se evita la formación de fibrillas de amiloides que aumentan la eficacia de la infección vírica o se destruyen las mismas.
- En una configuración de la invención, el péptido de acuerdo con la invención es un péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos que se une a especies de beta-amiloides, por ejemplo a A β ₁₋₄₂, y en la que el extremo C libre, es decir, el grupo carboxilo C-terminal, está modificado de tal manera que el extremo C no lleva ninguna carga negativa, sino que en cambio es neutro o presenta una o más cargas positivas.
- Los péptidos de acuerdo con la invención también incluyen aquellos péptidos que comprenden al menos un péptido de unión a una especie de beta-amiloide, presentando el péptido una secuencia de aminoácidos lineal que le capacitan para unirse a A-beta, por ejemplo a A β ₁₋₄₂, y esta propiedad se conserva o se refuerza al estar el péptido presente en forma ciclada por enlace covalente de sus dos extremos.
- Gracias a tales péptidos de acuerdo con la invención además se consigue de forma particularmente ventajosa el objetivo de proporcionar un péptido sin exceso de carga negativa en el extremo C. Por ello se da lugar, de forma ventajosa, a que este pueda unirse a los componentes de fibrillas de amiloides, tales como por ejemplo SEVI o A β , y pueda destruir los mismos, con mayor afinidad que un péptido que presenta un grupo carboxilo en el extremo C libre.
- En una configuración de la invención, tales péptidos de acuerdo con la invención en el estado fisiológico, en particular a pH 6-8, en particular 6,5-7,5, en particular a pH 6,0, pH 6,1, pH 6,2, pH 6,3, pH 6,4, pH 6,5, pH 6,6, pH 6,7, pH 6,8, pH 6,9, pH 7,0, pH 7,1, pH 7,2, pH 7,3, pH 7,4, pH 7,5, pH 7,6, pH 7,7, pH 7,8, pH 7,9 o pH 8,0 o sus valores intermedios están modificados de tal manera que el extremo C no lleva una carga negativa, sino que en cambio es neutro o presenta una o más cargas positivas.
- En otra configuración de la invención, el péptido está caracterizado por que un grupo amida de ácido está presente en el extremo C libre en lugar del grupo carboxilo. En lugar del grupo carboxilo (grupo -COOH) está dispuesto, por tanto, un grupo amida de ácido (grupo --CONH₂) en el extremo C. El péptido, por lo tanto, de modo particularmente ventajoso está amidado en el extremo C libre. Por ello se consigue de forma particularmente ventajosa el objetivo adicional de que esté presente un péptido sin exceso de carga negativa, que pueda unirse con mayor afinidad a la molécula diana, es decir, a las fibrillas de A-beta y/o a las fibrillas asociadas a SEVI, y destruir las mismas y que pueda obtenerse de forma sencilla.
- En otra configuración de la invención están presentes los siguientes grupos adicionales en lugar del grupo carboxilo: COH, COCl, COBr, resto CONH-alquilo, resto CONH-alquilo (carga positiva neta) etcétera, sin quedarse limitado a esto, sino siguiéndose la enseñanza técnica de que el extremo C no lleva una carga negativa, sino que en cambio es neutro o presenta una o más cargas positivas.
- Se desvelan péptidos que contienen una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 (D3), SEQ ID NO: 2 (RD2), SEQ ID NO: 3 (DB3), SEQ ID NO: 4 (D3r), SEQ ID NO: 5 (D3p), SEQ ID NO: 6 (D3a) y/u homólogos, fragmentos y partes de las mismas. Estos péptidos son unidades de sustancia (en lo sucesivo denominadas "monómeros") que se unen a especies de beta-amiloides.
- En una variante de la invención se emplean aquellos monómeros que se unen a los componentes de las fibrillas de amiloides, por ejemplo, SEVI o A β , con una constante de disociación (valor K_D) de como máximo 500 μ M, preferiblemente 250, 100, 50 μ M, de forma particularmente preferible 25, 10, 6 μ M, en particular 4, 2, 1 μ M.

5 Se desvelan polímeros que están compuestos por dos o más de los monómeros antes mencionados, en particular dímeros de la SEQ ID NO: 7 (RD2D3), SEQ ID NO: 8 (D3RD2), SEQ ID NO: 9 (D3D3), SEQ ID NO: 10 (RD2RD2) y/o SEQ ID NO: 11 (DB3DB3) y/o sus homólogos, fragmentos y partes de las mismas. Los dímeros están compuestos por dos unidades monoméricas que se unen a especies de beta-amiloideas y/o fibrillas asociadas a SEVI.

10 Los polímeros de monómeros, estructurados de acuerdo con la invención, que a su vez se unen a fibrillas de amiloideas tales como por ejemplo de la demencia de Alzheimer o por ejemplo de SEVI o evitan su formación o destruyen las mismas muestran claros efectos sinérgicos en cuanto a su selectividad y afinidad en comparación con los monómeros. En otras palabras: los polímeros de acuerdo con la invención, en particular los dímeros seleccionados del grupo de las SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y/o SEQ ID NO: 11, son superiores a los monómeros de los que están compuestos. Los efectos sinérgicos en el sentido de la presente invención son efectos que muestran una mayor selectividad y/o afinidad por los componentes de las fibrillas de amiloideas, por ejemplo, SEVI o A β , en particular del valor K_D relativo a los componentes de las fibrillas de amiloideas, por ejemplo, SEVI o A β , en comparación con las unidades monoméricas individuales.

15 En otra configuración particularmente ventajosa de la invención, los polímeros y en particular los dímeros en experimentos de modelo animal (*in vivo*) ventajosamente son más eficaces que los monómeros.

20 En una variante de la invención se emplean aquellos polímeros que se unen a fibrillas de amiloideas, por ejemplo, del péptido A-beta, con una constante de disociación (valor K_D) de como máximo 500 μ M, preferiblemente 250, 100, 50 μ M, de forma particularmente preferible 25, 10, 1 μ M, de forma particularmente preferible con una constante de disociación (valor K_D) de como máximo 500 nM, 250, 100, 50, de forma particularmente preferible 25, 10, 1 nM, 500 pM, 100, 50, 25, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 pM a sub-pM.

25 En una configuración de la invención, la afinidad está definida por la constante de disociación (valor K_D).

30 Se desvela que los fragmentos y partes muestran un efecto similar o idéntico al de los péptidos de acuerdo con la invención.

35 En una variante, los péptidos de acuerdo con la divulgación, en particular los péptidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 y/o SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y/o SEQ ID NO: 11 y sus homólogos, fragmentos o partes de las mismas en esencia, preferiblemente al menos en un 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, de forma particularmente preferible 85 %, 90 %, 95 %, en particular 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 %, están compuestos por D-aminoácidos.

40 Un polímero en el sentido de la divulgación está formado por 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más monómeros que se unen a los componentes de las fibrillas de amiloideas, por ejemplo, SEVI o A β .

45 El polímero está formado, en particular, por monómeros seleccionados del grupo compuesto por las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y/o SEQ ID NO: 3.

El polímero puede estar seleccionado, en una configuración de la divulgación, del grupo de las SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y/o SEQ ID NO: 11 y sus homólogos, fragmentos o partes de las mismas, que en sí mismos ya se unen al oligómero de beta-amiloideas de la demencia de Alzheimer.

50 En otra configuración de la invención, los péptidos de acuerdo con la invención comprenden al menos un péptido de unión a una especie de beta-amiloide, tal como por ejemplo el D3 conocido por el estado de la técnica, presentando el péptido una secuencia de aminoácidos lineal que le capacitan para unirse a A-beta y esta propiedad se conserva o se refuerza al estar el péptido lineal presente finalmente en forma ciclada por enlace covalente de sus dos extremos.

El péptido D3 mencionado se conoce, por ejemplo, por el documento WO 02/081505 A2.

55 El péptido de acuerdo con la invención presenta ventajosamente una secuencia de aminoácidos en la que la ciclación de la molécula lineal, es decir, del primer con el último aminoácido, se realiza por un enlace covalente, por ejemplo, mediante una reacción de condensación.

60 Esta medida da lugar, ventajosamente, a que no haya presentes extremos abiertos en la cadena peptídica (secuencia de aminoácidos).

Esta medida también da lugar a que todos los péptidos lineales con secuencias de aminoácidos que, después de la ciclización, producen el mismo orden de aminoácidos, ya indistinguible, sean idénticos.

65 Ejemplo: la secuencia de aminoácidos lineal de D3 es rprtrlhthrr. El correspondiente péptido circularizado "cD3", unido por un enlace amídico entre el grupo amino N-terminal y el grupo carboxilo C-terminal, ya no puede distinguirse de los péptidos circularizados prtrlhthrrr, rtrlhthrrrp, trlhthrrrpr, rlhthrrrrprt, lhthrrrrprtr, hthrrrrprtrl, thrrrrprtrlh,

hnrprtrlht, mnrprtrlhth, nrrprtrlhth o rprtrlhthrn.

La producción de péptidos ciclados es estado de la técnica y puede realizarse de acuerdo con los procedimientos tal como se describe en el documento DE 102005049537 A1 o en http://www.beuth-hochschule.de/fileadmin/oe/tt/Forschungsassistenz/Forschungsassistenz_01/tt_fa_01_schuster.pdf („Synthese von zyklischen Hexapeptiden mit Blutdrucksenkender Wirkung“).

La ciclación ventajosamente también da lugar a que no haya más extremos "abiertos" de la cadena peptídica, que a menudo son puntos de ataque para actividades de degradación de péptidos en células, animales o seres humanos, por ejemplo, por aminopeptidasas y carboxipeptidasas. Por lo tanto, los péptidos ciclados tienen ventajosamente una estabilidad mucho mayor en animales y seres humanos que los péptidos lineales correspondientes.

El péptido ciclado puede presentar un grupo enlazador. Con la expresión grupo enlazador preferiblemente se quiere decir: aminoácidos individuales adicionales en moléculas tales como, por ejemplo, D3, que *per se* se pueden usar en el tratamiento de la demencia de Alzheimer para unirse a los componentes de A-beta. El aminoácido adicional no debe alterar la unión del péptido ciclado a A-beta.

Algunas secuencias de péptidos, mencionadas únicamente a modo de ejemplo, que pueden usarse de acuerdo con la invención están representadas a continuación:

- 20 D3 rprtrlhthrn (SEQ ID NO: 1)
- RD2 ptlhthnrrrrr (SEQ ID NO: 2)
- 25 DB3 rpitrlrthqnr (SEQ ID NO: 3)
- D3r rprtrlhthrnrr (SEQ ID NO: 4)
- D3p rprtrlhthrnrp (SEQ ID NO: 5)
- 30 D3a rprtrlhthrnra (SEQ ID NO: 6)
- RD2D3 ptlhthnrrrrrprtrlhthrn (SEQ ID NO: 7)
- 35 D3RD2 rprtrlhthnrptlhthnrrrr (SEQ ID NO: 8)
- D3D3 rprtrlhthnrprtrlhthrn (SEQ ID NO: 9)
- RD2RD2 ptlhthnrrrrrptlhthnrrrr (SEQ ID NO: 10)
- 40 DB3DB3 rpitrlrthqnrrpitrlrthqnr (SEQ ID NO: 11)

Los bloques de péptido monoméricos pueden ser idénticos o no idénticos.

45 Los bloques de péptido pueden estar acoplados cabeza a cabeza, cola a cola o cabeza a cola linealmente y estar presentes en su totalidad por medio de enlace covalente de los dos extremos restantes, con o sin bloques adicionales (por ejemplo, uno o más aminoácidos), ciclados o amidados u ocupados con otros grupos en el extremo C.

50 Las al menos dos unidades de monómero peptídico pueden estar a su vez enlazadas entre sí de forma covalente o no covalente, por ejemplo, a través de un grupo biotina y un tetrámero de estreptavidina. Los péptidos están caracterizados por unidades que están acopladas linealmente cabeza a cabeza, cola a cola o cabeza a cola.

Dado que la molécula diana del tratamiento terapéutico es, por ejemplo, fibrillas de amiloides de la demencia de Alzheimer y/o fibrillas asociadas a SEVI o un oligómero de beta-amiloide y, por lo tanto, naturalmente es una diana multivalente, en una configuración particularmente preferida de la invención se emplean sustancias que son adecuadas para un tratamiento, es decir, la destrucción de los oligómeros de beta-amiloides existentes y, en particular, de las fibrillas de amiloides de la demencia de Alzheimer y/o de las fibrillas asociadas a SEVI, consistentes en varias copias de una unidad de unión a oligómeros de beta-amiloides ya eficaz o de varias unidades de unión a oligómeros de beta-amiloides ya eficaces distintas.

60 Estos péptidos pueden estar presentes en forma ciclada. En este caso, el péptido de acuerdo con la invención comprende por tanto varios bloques de péptido de unión eficaz a oligómero de beta-amiloides, que en cada caso están estructurados a partir de aminoácidos y ciclados en su totalidad por enlace covalente.

65 En particular, todos los péptidos lineales son idénticos a secuencias de aminoácidos que, después de la ciclación, producen el mismo orden de aminoácidos, ya indistinguible. Ejemplo: la secuencia de aminoácidos lineal de D3 es

prtrlhthrr. El correspondiente péptido circularizado "cD3", unido por un enlace amídico entre el grupo amino N-terminal y el grupo carboxilo C-terminal, ya no puede distinguirse de los péptidos circularizados prtrlhthrrr, rtrlhthrrrp, trlhthrrrrp, rlhthrrrrpt, lhthrrrrprtr, hthrrrrprtr, thrrrrprtrlh, hrrrrprtrlh, nrrrrprtrlhth, nrrrrprtrlhth o rrrrrprtrlhth.

5 En una variante de la divulgación se trata de un agente con un péptido con la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 y/o la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 y/u homólogos de las mismas con una identidad del 10 50 %. "Secuencias homólogas" u "homólogos" en el sentido de divulgación significa que una secuencia de aminoácidos presenta una identidad con una de las secuencias de aminoácidos mencionada de los monómeros de al menos un 50, 55, 60, 65, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 %. En lugar del término "identidad", los términos "homólogo" u "homología" se usan con el mismo significado en la presente descripción. La identidad entre dos secuencias de ácido nucleico o secuencias de polipéptidos se calcula mediante comparación con ayuda del programa BESTFIT que se basa en el algoritmo de Smith, T. F. y Waterman, M. S (Adv. Appl. Math. 2: 482-489 (1981)) con ajuste de los siguientes parámetros para aminoácidos: 15 penalización por creación de huecos: 8 y penalización por extensión de huecos: 2; y los siguientes parámetros para ácidos nucleicos: penalización por creación de huecos: 50 y penalización por extensión de huecos: 3. Preferiblemente se define la identidad entre dos secuencias de ácido nucleico o secuencias de polipéptidos mediante la identidad de la secuencia de ácido nucleico/secuencia de polipéptidos a lo largo de la longitud de secuencia total en cada caso, tal como se calcula mediante comparación con ayuda del programa GAP que se basa en el algoritmo de Needleman, S. B. y Wunsch, CD. (J. Mol. Biol, 48: 443-453) con ajuste de los siguientes parámetros para aminoácidos: penalización por creación de huecos: 8 y penalización por extensión de huecos: 2; y los siguientes parámetros para ácidos nucleicos 20 penalización por creación de huecos: 50 y penalización por extensión de huecos: 3.

25 Dos secuencias de aminoácidos son idénticas en el sentido de la presente invención cuando poseen la misma secuencia de aminoácidos. Por homólogos ha de entenderse en una variante las correspondientes secuencias retro-inversas de los monómeros mencionados anteriormente. Con la expresión "secuencia retro-inversa" se designa de acuerdo con la invención una secuencia de aminoácidos que se compone de aminoácidos en la forma enantiomérica (inversa: quiralidad del átomo de C alfa invertida) y en la que adicionalmente se invirtió el orden de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos original (retro = hacia atrás).

30 En otra variante se unen los péptidos de acuerdo con la invención también a partes del péptido beta-amiloide.

En otra variante, los agentes presentan péptidos y secuencias que se diferencian de las secuencias indicadas en hasta tres aminoácidos.

35 Además, se usan péptidos con secuencias que contienen las secuencias mencionadas anteriormente.

En otra variante, los péptidos presentan fragmentos de las secuencias mencionadas anteriormente o presentan secuencias homólogas a las secuencias mencionadas anteriormente.

40 Los fragmentos y las partes muestran un efecto similar o idéntico al de los péptidos de acuerdo con la divulgación.

Los agentes de acuerdo con la divulgación se usan para el tratamiento y/o la prevención del VIH y/o de otras infecciones víricas.

45 Los polímeros de péptidos de acuerdo con la invención con las secuencias de aminoácidos mencionadas, que son adecuados para el tratamiento y/o la prevención de las fibrillas asociadas a la demencia de Alzheimer, también consiguen el objetivo de la invención. Estos se usan de acuerdo con la divulgación para el tratamiento y/o la prevención del VIH y/u otras enfermedades víricas. Se trata de agentes que contienen al menos una sustancia que es adecuada para evitar la formación de fibrillas de amiloides, tales como por ejemplo fibrillas A β de la demencia de Alzheimer, o para destruir las mismas.

50 Estos se usan para el tratamiento y/o la prevención del VIH y/u otras enfermedades víricas, así como de enfermedades secundarias, tales como por ejemplo DAV, al evitarse la formación de fibrillas de amiloides que aumentan la eficacia de la infección vírica o al destruirse las mismas.

De acuerdo con la divulgación, los agentes se usan como agente terapéutico y para prevenir el VIH y otras enfermedades víricas.

60 El agente de acuerdo con la divulgación, una crema o un comprimido como forma de administración, por lo tanto, comprende un péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo compuesto por la SEQ ID NO: 1 y/o una de las SEQ ID NO: 2-11 indicadas u homólogos, o fragmentos y partes de las mismas, así como polímeros y sus homólogos, fragmentos y partes de los mismos. Otros tipos de administración, por ejemplo, subcutánea, intraperitoneal, intracraneal, en forma de supositorios, como pulverizador nasal, etc., también quedan comprendidos de acuerdo con la invención. Entonces, estas formas de administración comprenden los agentes de 65 acuerdo con la invención.

Otras secuencias peptídicas que se pueden usar de forma demostrable para el tratamiento y la prevención de la demencia de Alzheimer también se pueden utilizar para la prevención del VIH y otras infecciones víricas o su propagación en el cuerpo y, por lo tanto, son objeto de la presente divulgación, ya que tienen como objetivo no solo las fibrillas de amiloides de la demencia de Alzheimer, sino, dado el caso, también las fibrillas asociadas a SEVI.

En el marco de la invención se reconoció que se pueden considerar como moléculas diana para la prevención de una infección, por ejemplo, pero no exclusivamente, las fibrillas de SEVI en el esperma. En las personas ya infectadas de acuerdo con la invención en particular, pero no exclusivamente, puede evitarse el desarrollo de DAV o ralentizarse su progresión mediante la reducción del número de fibrillas de amiloides (consistentes, por ejemplo, en A β), que se producen cada vez con mayor frecuencia en el SNC con el aumento de la edad, reduciendo así la eficacia de la infección del VIH en la medida de lo posible.

En el marco de la invención se reconoció además que los péptidos de acuerdo con la invención como componentes de los agentes de acuerdo con la invención reducen el aumento de la eficacia de una infección por VIH por fibrillas de amiloides, compuestas, por ejemplo, por SEVI o A β y así evitan el contagio por transmisión sexual y/o ralentizan la propagación del virus en el cuerpo. "A β " significa todas las especies de A β humano y las variantes y mutantes descritas y conocidas en el ser humano, por ejemplo A β ₁₋₄₀, A β ₁₋₄₂, A β ₃₋₄₀, A β _{pE3-40}, A β _{pE3-42}, así como mezclas de las mismas. Los agentes de acuerdo con la invención evitan la formación o destruyen al menos una de las fibrillas de amiloides mencionadas que aumentan la infección.

En el marco de la invención se reconoció que solo las fibrillas de A β , pero no los monómeros de A β o los oligómeros de A β pueden aumentar la infección por VIH-1. Por tanto, son objeto de la invención en particular aquellos péptidos de acuerdo con la invención, como componentes de los agentes, cremas, comprimidos, supositorios, pulverizadores, etcétera, que se usan de forma demostrable para el tratamiento y la prevención de la demencia de Alzheimer por ejemplo, al unirse a y/o destruir las fibrillas de A β . Estos péptidos como componente de los agentes, cremas, comprimidos, soluciones para inyección e infusión, etcétera, se pueden usar particularmente también para la prevención del VIH y otras infecciones víricas y, por lo tanto, son objeto de la presente divulgación.

También se reconoció que los péptidos, tales como por ejemplo el péptido D3 y el péptido D3D3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 9, que, entre otras cosas, eliminan las fibrillas de la demencia de Alzheimer compuestas por A β ₁₋₄₂ de manera particularmente efectiva, también eliminan de manera efectiva las fibrillas asociadas a esperma amiloides como portadores y potenciadores de virus (SEVI), en particular retrovirus, tales como por ejemplo el VIH. Sorprendentemente se reconoció que, a pesar de la diferente composición de las fibrillas del propio cuerpo, estas configuran evidentemente estructuras tan similares que se pueden eliminar de manera particularmente efectiva por medio de un principio activo común, tal como por ejemplo D3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 o D3D3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 9 o los demás agentes mencionados.

La divulgación no se limita a esto. Los agentes y péptidos de acuerdo con la invención también pueden prevenir eficazmente otras infecciones víricas y sus enfermedades secundarias, tales como por ejemplo DAV.

Por lo tanto, la divulgación y el uso de los agentes se refieren no solo a los retrovirus, sino también a los rabdovirus, tales como por ejemplo el virus de la estomatitis vesicular patógeno para los seres humanos.

El uso de los péptidos de acuerdo con la invención como agente terapéutico y para la prevención de, por ejemplo, el VIH y otros virus mencionados anteriormente es, por lo tanto, objeto directo de la divulgación.

En particular, el uso de los péptidos de acuerdo con la invención como agente terapéutico o agente preventivo para evitar la formación o para la destrucción de las fibrillas de amiloides existentes de la demencia de Alzheimer (fibrillas A β) y las fibrillas de SEVI con el fin de inhibir su efecto de aumento de la eficacia de la infección por VIH es objeto directo de la divulgación.

Existen acciones cruzadas de fibrillas de amiloides. Las fibrillas de amiloides de la demencia de Alzheimer y/o las fibrillas asociadas a SEVI, pero también fibrillas compuestas por otras proteínas/péptidos se pueden tratar al mismo tiempo con agentes de acuerdo con la invención. Los agentes que se pueden usar contra las fibrillas de amiloides de una enfermedad también se pueden usar contra otra enfermedad que dado el caso produce fibrillas de amiloides.

Con ayuda de diferentes técnicas de presentación de fagos se pueden identificar aquellos péptidos que, por ejemplo, se unen con alta afinidad de unión al péptido A β asociado a Alzheimer u otros péptidos formadores de fibrillas. Estos péptidos seleccionados se usan entonces como componentes de los agentes de acuerdo con la divulgación.

Es más fácil para el experto realizar un estudio de bibliografía que procedimientos que puede llevar a cabo sin ningún esfuerzo especial. Puede buscar para esto en la bibliografía principios activos que se usan contra las fibrillas de amiloides de una primera enfermedad, por ejemplo, la demencia de Alzheimer. Determina sin esfuerzo un principio activo potencial A. Este no solo es aplicable contra la primera enfermedad, sino de acuerdo con la divulgación para el tratamiento y/o la prevención de una segunda enfermedad vírica, que se potencia con las mismas u otras fibrillas de

amiloides, o que también configura fibrillas de amiloides, por ejemplo, infecciones víricas asociadas con SEVI.

5 Un uso de acuerdo con la divulgación por lo tanto radica en que un agente conocido (por ejemplo, D3 o un péptido de acuerdo con las SEQ ID NO: 1-11), que puede utilizarse eficazmente contra una primera enfermedad en el curso de la cual se configura una primera variedad de fibrillas de amiloides (demencia de Alzheimer) para el tratamiento y/o la prevención, se usa para el tratamiento y/o la prevención de una segunda enfermedad que se ve incrementada por fibrillas de amiloides de la primera variedad o de otra variedad.

10 En comparación con péptidos L-enantioméricos, los péptidos D son más resistentes a las proteasas *in vivo* e inducen, si es que lo hacen, una respuesta inmunitaria débil.

15 En una variante, los péptidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 1-11 y sus homólogos consisten por lo tanto en esencia, preferiblemente al menos en un 60 %, 75 %, 80 %, de forma particularmente preferible un 85 %, 90 %, 95 %, en particular un 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o totalmente, es decir, en un 100 %, de D-aminoácidos.

La forma D-enantiomérica de estos péptidos de acuerdo con la invención está, por tanto, contenida en esencia o por completo en los agentes de acuerdo con la invención.

20 Los agentes de acuerdo con la divulgación están contenidos como componentes, por ejemplo, en forma de comprimido o en un gel o pulverizador o supositorio microbicida u otra forma de administración para tratar o prevenir una infección por el VIH.

25 Los agentes son, en particular, componentes de un gel microbicida. Por lo tanto, el objetivo también se consigue con un agente como componente de un gel microbicida, que es adecuado para evitar la formación de fibrillas de amiloides o para destruir las mismas.

30 El gel microbicida comprende para esto un agente que contiene al menos un péptido con una secuencia de aminoácidos que se ha desarrollado o inventado para la prevención de la demencia de Alzheimer, al evitarse la formación de fibrillas de amiloides asociadas a ello por péptidos con esta secuencia o al destruirse las mismas. Esto también pueden ser secuencias homólogas, fragmentos y partes de las mismas. El gel microbicida se usa para tratar y/o prevenir el VIH y/u otras infecciones víricas.

35 En particular es adecuado un agente como componente de un gel microbicida para el tratamiento y la prevención del VIH y otras infecciones víricas, que comprende un péptido con al menos una secuencia de aminoácidos de acuerdo con las SEQ ID NO: 1-6 y homólogos, fragmentos y partes de las mismas y/o polímeros de las SEQ ID NO: 7-11 y sus homólogos, fragmentos y partes de los mismos.

40 Los datos de concentración de los componentes y, en particular, de los péptidos de acuerdo con la invención en el gel, se determinan por el experto de forma adecuada, al igual que los demás componentes en el gel, tales como lubricantes para su uso en el área genital, etc.

45 Lo mismo se aplica a la composición de un comprimido para el tratamiento del VIH o para el tratamiento y/o prevención de la DAV. Los agentes son, en particular, componente de un comprimido. El objetivo de la invención, por tanto, también se consigue por un agente como componente de un comprimido, que es adecuado para evitar la formación de fibrillas de amiloides o para destruir las mismas.

50 A tal fin, el comprimido comprende un agente que contiene al menos un péptido con una secuencia de aminoácidos que se ha desarrollado o inventado para la prevención de la demencia de Alzheimer, al evitarse la formación de fibrillas de amiloides asociadas a ello por péptidos con esta secuencia o al destruirse las mismas. Esto también pueden ser secuencias homólogas, fragmentos y partes de las mismas. El comprimido se usa para tratar y/o prevenir el VIH y/u otras infecciones víricas y sus enfermedades secundarias, tales como DAV.

55 En particular es adecuado un agente como componente de un comprimido para el tratamiento y la prevención del VIH y otras infecciones víricas, pero también de enfermedades secundarias, tales como por ejemplo la DAV, que comprende un péptido con al menos una secuencia de aminoácidos de acuerdo con los monómeros de las SEQ ID NO: 1-6 y homólogos, fragmentos y partes de las mismas y/o polímeros, tales como por ejemplo polímeros de las SEQ ID NO: 7-11 y sus homólogos, fragmentos y partes de los mismos.

60 Los datos de concentración de los componentes y, en particular, de los péptidos de acuerdo con la invención en el comprimido, se determinan por el experto de forma adecuada, al igual que los demás componentes en el comprimido.

65 Como se ha indicado para el gel o el comprimido, también otras formas de administración mencionadas, tales como por ejemplo un pulverizador o una solución para inyección o infusión o un supositorio contendrán los agentes de acuerdo con la invención.

De forma particularmente ventajosa, el péptido de acuerdo con la invención, por ejemplo D3 de acuerdo con la SEQ

ID NO: 1 y el polímero, por ejemplo D3D3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 9, pueden prevenir de forma efectiva o por completo el aumento de la infección por VIH mediada tanto por las fibrillas de A β como por las fibrillas de SEVI.

5 En el marco de la invención se reconoció que los hallazgos del estado de la técnica, en particular de Wojtowicz et al., son de importancia puramente teórica, ya que la coincidencia de fibrillas A β , partículas de VIH y células positivas a CD4 es cualquier cosa menos obvia y en condiciones normales en el cuerpo se consideró descartada (barrera hematoencefálica).

10 Como ya se ha mencionado, sin embargo, el pronóstico de los pacientes infectados por el VIH ha mejorado considerablemente en los últimos años como resultado del tratamiento actualmente disponible (HAART). El tratamiento es necesario de por vida, ya que la infección vírica por lo general solo se suprime, pero no se cura. En el marco de la invención se reconoció por tanto que muchos de los pacientes positivos a VIH de dos a tres décadas después de la infección desarrollan déficits neurológicos, que se resumen, entre otras cosas, bajo la expresión "demencia asociada al VIH" (DAV). Se reconoció que el elevado número de supervivientes a largo plazo positivos a VIH ha convertido a la DAV entretanto en la forma más común de demencia entre las personas menores de 50 años de edad. El origen de la DAV, a este respecto, queda completamente sin explicación. Se supone que la superación de la barrera hematoencefálica por el VIH debería ser un acontecimiento extremadamente poco frecuente. En particular, debe asumirse que el VIH solo puede replicarse de manera muy ineficiente, si es que puede hacerlo, en las células del sistema nervioso central (SNC). Independientemente de toda la información conocida hasta la fecha sobre el VIH, hoy en día se supone que la formación de las primeras fibrillas de A β comienza ya varias décadas antes del desarrollo de los primeros síntomas clínicamente observables de "Alzheimer".

25 Para la presente invención es decisiva la siguiente hipótesis, que no ha sido sugerida de ninguna manera hasta ahora. Asumiendo que las primeras fibrillas de A β ya se han formado en una persona de 40 años y están presentes en el cerebro, sería concebible que partículas individuales de VIH que atraviesan la barrera hematoencefálica encontrasen allí fibrillas de A β que les permitirían infectar células del SNC gracias al múltiple aumento de su eficacia de infección y multiplicarse en las mismas y, en última instancia, dañar el cerebro hasta tal punto que se desarrollarían los síntomas de DAV. Esta hipótesis se apoya en los resultados de la presente solicitud de patente. Aunque las pocas fibrillas de A β , que ya están en el SNC a la edad de aproximadamente 40 años, no causan todavía ningún daño visible en sí mismas, su número aumenta con la edad. Esto explicaría por qué una infección por VIH, a pesar del HAART, puede conducir a una DAV en la mediana edad. Los agentes de acuerdo con la invención contrarrestan eficazmente este proceso al evitar la formación de fibrillas de amiloides, por ejemplo, las fibrillas de A β de la demencia de Alzheimer, o al destruir las mismas. Los agentes de acuerdo con la invención actúan a este respecto directamente sobre el aumento de la infectividad de las partículas de virus, tales como el VIH, causado por las fibrillas. El aumento de la infectividad causado por las fibrillas de amiloides de la demencia de Alzheimer y/o las fibrillas asociadas a SEVI puede evitarse por completo de acuerdo con la invención y restablecerse al bajo nivel natural de infectividad de los virus en ausencia de fibrillas de amiloides.

40 En una configuración de la divulgación, por tanto, se usan agentes para el tratamiento y/o la prevención simultáneos de fibrillas asociadas a la demencia de Alzheimer y del VIH y/u otras enfermedades víricas, así como sus enfermedades secundarias, tales como por ejemplo DAV, con alta afinidad de unión. En particular, con una afinidad de unión a fibrillas de amiloides A β con una constante de disociación en el intervalo de micromolar, preferiblemente submicromolar, de forma particularmente preferible nanomolar, de forma muy particularmente preferible de como máximo 10 picomolar y subpicomolar. Esta condición se consigue, por ejemplo, con el péptido con la SEQ ID NO: 9, es decir, con D3D3 así como otros péptidos de acuerdo con la invención.

Ejemplos de realización

50 A continuación, la invención se explica con más detalle mediante ejemplos de realización y las figuras adjuntas, sin que por ello se limite el alcance de la presente invención que se establece para el experto.

Ejemplo de realización 1: uso del inhibidor amiloidógeno D3 para reducir la infección vírica mediada por SEVI o A β

55 Para analizar el efecto del inhibidor amiloidógeno D3 como potencial agente terapéutico para la reducción de la propagación retroviral fomentada por péptido amiloide se infectaron con el VIH-1 células T2M-bl de crecimiento adherente. Estas células expresan los receptores del VIH-1 CD4, CXCR4 y CCR5, por lo que son permisivas para aislados de VIH tanto T-trópicos como M-trópicos. Además, expresan los genes indicadores β -galactosidasa y luciferasa bajo el control del promotor de la LTR del VIH-1, cuya expresión puede inducirse, por tanto, por una infección por el VIH-1 y, por ello, detectarse. La línea de células indicadoras T2M-bl posibilita con ello un análisis cuantitativo de las eficacias de infección por VIH.

60 Las células T2M-bl se infectaron con las mismas cantidades de VIH-1, que se habían preincubado previamente con diferentes concentraciones de fibrillas de A β ₁₋₄₂, las cuales a su vez se habían tratado con dos concentraciones del péptido D3 o PBS como control de disolvente. D3 estaba compuesto por aminoácidos de la forma D-enantiomérica. 48 h después de la infección, las células T2M-bl se lavaron con PBS, se fijaron añadiendo formaldehído/glutaraldehído y después se volvieron a lavar. La coloración azul de las células mediada por la galactosidasa se produjo mediante

- incubación durante una noche con una solución de X-Gal. Al día siguiente se retiró la solución de tinción, las células fijadas se lavaron de nuevo con PBS y se examinaron para detectar la tinción azul mediante microscopía óptica. Dado que estas células indicadoras expresan también luciferasa además de β -galactosidasa en proporción a la tasa de infección, este efecto también pudo determinarse cuantitativamente. Las células infectadas de la misma manera se
- 5 lisaron para esto mediante 1xPLB (tampón de lisis pasiva) después de un doble lavado con PBS. Después de la adición de la solución de sustrato de luciferasa se midió la intensidad de la luz con la longitud de onda 560 nm, que se produce por la oxidación de luciferina, que a su vez es catalizada por la enzima luciferasa de luciérnaga.
- Basándose en la cantidad de células teñidas de azul así como en la intensidad medida de la luz se pudo demostrar
- 10 que D3 pudo reducir claramente tanto la tasa de infección fomentada por SEVI como la fomentada por A β .
- Según esto, D3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 representa un agente terapéutico potencial para la contención y la prevención de infecciones víricas, en particular, pero no exclusivamente, del VIH así como de sus enfermedades secundarias, tales como por ejemplo DAV.
- 15 Además del papel que desempeñan los amiloides en la eficacia de la infección de partículas del VIH en el semen, cabe suponer que los amiloides también tienen un papel importante en el desarrollo de la demencia asociada al VIH (DAV).
- 20 La DAV, también denominada encefalopatía por VIH, se desarrolla en del 20 al 30 % de los pacientes positivos a VIH durante el curso de la infección. Es un síndrome de trastornos cognitivos, motores y conductuales. Estos incluyen síntomas motores con disfunción motora fina, síntomas cognitivos, por ejemplo, trastornos de la memoria y la concentración, síntomas emocionales, por ejemplo, pérdida de la iniciativa y la vitalidad, y aislamiento social con pérdida de la competencia social.
- 25 La Fig. 1 muestra que las fibrillas de A β ₁₋₄₂ asociadas a la demencia de Alzheimer, pero no los mono- y oligómeros, aumentan la infección por VIH-1 de células TZM-bl.
- Se preincubaron cantidades iguales de aislado de VIH-1 NL4-3 durante 5 min TA con las concentraciones indicadas de fibrillas de A β ₁₋₄₂.
- 30 A continuación se infectaron células indicadoras TZM-bl con partículas de virus pretratadas.
- La Fig. 1 A muestra la actividad de luciferasa inducida por la infección 48 h después de la infección. La Fig. 1 B muestra el cambio en el aumento de la luciferasa en relación con células que se infectaron en ausencia de las fibrillas de A β ₁₋₄₂ (preparación simulada). Las Fig. 1 C y Fig. 1 D muestran la misma preparación que en la Fig. 1 A utilizando las cantidades indicadas de mono- y oligómeros de A β ₁₋₄₂.
- 40 La Figura 1E muestra la infectividad potenciada por las fibrillas de A β ₁₋₄₂ en linfocitos T MOLT-4. Se preincubaron cantidades iguales de derivados de VIH-1 NL4-3, que expresan una proteína de fusión NEF-GFP, durante 5 min a TA con A β ₁₋₄₂ [50 μ g/ml]. A continuación se usó el virus pretratado para infectar los linfocitos T MOLT-4. Está representada la parte porcentual de células positivas a GFP, indicada por análisis FACS 48 h después de la infección.
- URL: unidades relativas de luz.
- 45 SEC: tampón de cromatografía de exclusión por tamaño (sin tween)
- De esto se deduce la información de que los péptidos, que reducen eficazmente una demencia de Alzheimer al evitar o prevenir las fibrillas asociadas, también pueden utilizarse para el tratamiento y la prevención del VIH y especialmente para el tratamiento y la prevención de la DAV.
- 50 La Fig. 2 A muestra una prueba de esta tesis.
- El péptido D D3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 actúa como un potente inhibidor amiloidógeno. D3 reduce la infectividad promovida por fibrillas, como lo indica la disminución de la tinción X-Gal, con aumento de la concentración de D3, de las células indicadoras TZM-bl que estaban infectadas por VIH-1 en presencia (signo positivo) o en ausencia de SEVI y fibrillas de A β ₁₋₄₂ (50 μ g/ml) (signo negativo). Las fibrillas se habían preincubado con D3 antes de la infección (0,5 y 5 μ g/ml).
- 60 La Figura 2B muestra una transferencia en la que se preincubaron cantidades iguales de la cepa NL4-3 de VIH-1 durante 5 min a TA con fibrillas de A β ₁₋₄₂ (50 μ g/ml). Además se preincubaron fibrillas con D3 (0,5 y 5 μ g/ml). Posteriormente se usó el virus pretratado para infectar células indicadoras TZM-bl y se midió la actividad de luciferasa inducida por la infección 48 h después de la posinfección (***) p<0,001).
- 65 La figura 2C muestra que la cantidad de células infectadas con D3 0,5 μ g/ml disminuye en aproximadamente el 60 % en comparación con las células no tratadas con fibrillas de SEVI. Con D3 5 μ g/ml, la cantidad de células infectadas

disminuye en aproximadamente un 90 % en comparación con las células no tratadas con fibrillas de beta-amiloideas (Figura 2D).

5 La Fig. 3 muestra que las fibrillas de A β (1-42) también son capaces de favorecer la tasa de infección de partículas de VIH pseudotipadas. Para esto se generaron partículas infecciosas de virus con ayuda de vectores lentivirales, en los que el genoma vírico se sustituyó por el producto genético verde fluorescente (GFP). La proteína G del rhabdovirus "virus de la estomatitis vesicular" (VSV-G) así como la glucoproteína del virus espumoso retroviral (FV-G) se usaron para el pseudotipado, es decir, para la dotación con glucoproteínas extrañas al VIH. Ambas glucoproteínas se unen a fosfolípidos, que se encuentran ubicadas en toda la membrana celular y permiten así un espectro de hospedadores más amplio. Las partículas lentivirales pseudotipadas se incubaron durante 5 min con la concentración indicada de A β (1-42). Posteriormente se usaron los virus para la transducción de linfocitos T HEK293, es decir, para integrar de forma estable el producto génico GFP en el genoma del hospedador. El número de células positivas a GFP, es decir, transducidas, se analizó 48 h después de la transducción por FACS. Se muestra el aumento de factor x de las células transducidas en relación con las que se habían transducido sin adición de A β (1-42).

15 A diferencia de la glucoproteína del VIH-1, este efecto promotor fue menos efectivo, pero claro. Se ha demostrado que la presencia de fibrillas puede favorecer la tasa de infección de virus independientemente de sus glucoproteínas o independientemente del espectro de hospedadores. Por consiguiente, D3 también es adecuado para el tratamiento de otras enfermedades víricas y sus enfermedades secundarias, tales como en particular DAV.

20 La Figura 4 y la Tabla 1 demuestran a modo de ejemplo mediante los inhibidores D3 y D3D3 que los mismos también reducen la infectividad de VIH-1 incrementada por las fibrillas de SEVI.

25 El enfoque experimental se estructuró para ello de la siguiente manera: La línea celular indicadora TZM-bl se incubó con la cepa de laboratorio NL4-3 PI 952 del VIH-1 en presencia de fibrillas de SEVI 6 μ g/ml (fragmentos de PAP formadores de fibrillas, aislados de semen: potenciador de la infección vírica derivado del semen). Las fibrillas se preincubaron con o sin D3 y D3D3 (0,5 y 5 μ g/ml en cada caso) antes de la infección. La eficacia de la infección se determinó midiendo la actividad de luciferasa (introducida por un gen de luciferasa codificado en la cepa de laboratorio) de las células infectadas 48 horas después de la infección (Tabla 1: resultados de la Figura 4).

30

Descripción de la muestra	Valor medio	Desviación típica
VIH + PBS	579,0	21,3
VIH + SEVI	7264,0	704,4
VIH + SEVI + 0,5 D3	7112,7	959,5
VIH + SEVI + 5 D3	4368,0	676,7
VIH + SEVI + 0,5 D3D3	5529,7	890,8
VIH + SEVI + 5 D3D3	1321,0	252,7

Los resultados muestran que los péptidos D3 y en particular D3D3 reducen una infectividad de los virus, aumentada por fibrillas asociadas a SEVI, en aproximadamente un 80 %.

REIVINDICACIONES

1. Agente que contiene al menos una sustancia que es adecuada para inhibir la formación de fibrillas de amiloides que aumentan la eficacia de la infección del VIH, o para destruirlas, para su aplicación en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de una demencia asociada al VIH (DAV) en el que, gracias a la sustancia, se evita la formación de fibrillas de amiloides que aumentan la eficacia de la infección vírica o se las destruye,
5 **caracterizado por**
al menos un péptido como sustancia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo compuesto por las SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2 y/o SEQ ID NO: 3 y/o SEQ ID NO: 4 y/o SEQ ID NO: 5 y/o SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 7 y/o SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 9 y/o SEQ ID NO: 10 y/o SEQ ID NO: 11 y en donde al menos un péptido
10 está compuesto en esencia o por completo por D-aminoácidos.
2. Agente para su aplicación de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, que contiene
15 al menos un péptido que es adecuado para evitar la formación de fibrillas de beta-amiloides y fibrillas de SEVI, que aumentan la eficacia de la infección del virus VIH, o para destruirlas, para el tratamiento y/o la prevención de una demencia asociada al VIH (DAV).
3. Agente para su aplicación de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
20 **caracterizado por**
al menos un péptido como sustancia con una secuencia de aminoácidos que es adecuado para la prevención y el tratamiento de fibrillas asociadas a la demencia de Alzheimer para el tratamiento y/o la prevención de una demencia asociada al VIH (DAV), en el que, gracias al péptido, se evita la formación de fibrillas de amiloides que aumentan la eficacia de la infección vírica o se las destruye.
- 25 4. Agente para su aplicación de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
para el tratamiento y/o la prevención simultáneos de la demencia de Alzheimer y una demencia asociada al VIH (DAV).
5. Agente para su aplicación de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores,
30 para el tratamiento y/o la prevención simultáneos de la demencia de Alzheimer y una demencia asociada al VIH (DAV),
con una afinidad de unión a las fibrillas de amiloides asociadas con una constante de disociación en el intervalo de micromolar, preferiblemente submicromolar, de forma particularmente preferible nanomolar, de forma muy particularmente preferible de como máximo 10 picomolar, de forma particularmente preferible hasta subpicomolar.
- 35 6. Agente para su aplicación de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5 como componente de un comprimido,
un gel o pulverizador o supositorio microbicida u otra forma de administración.

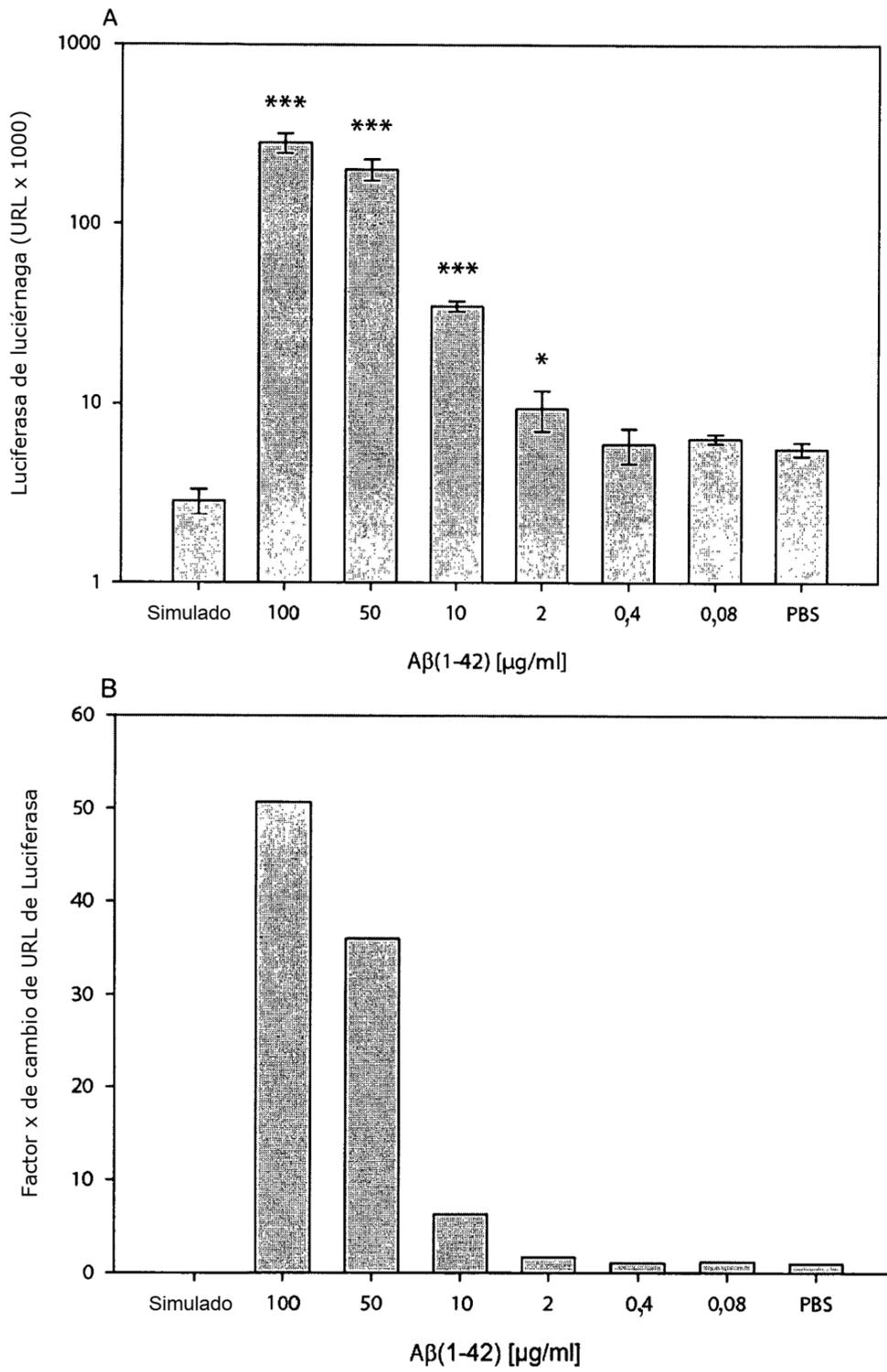


Figura 1 A-B

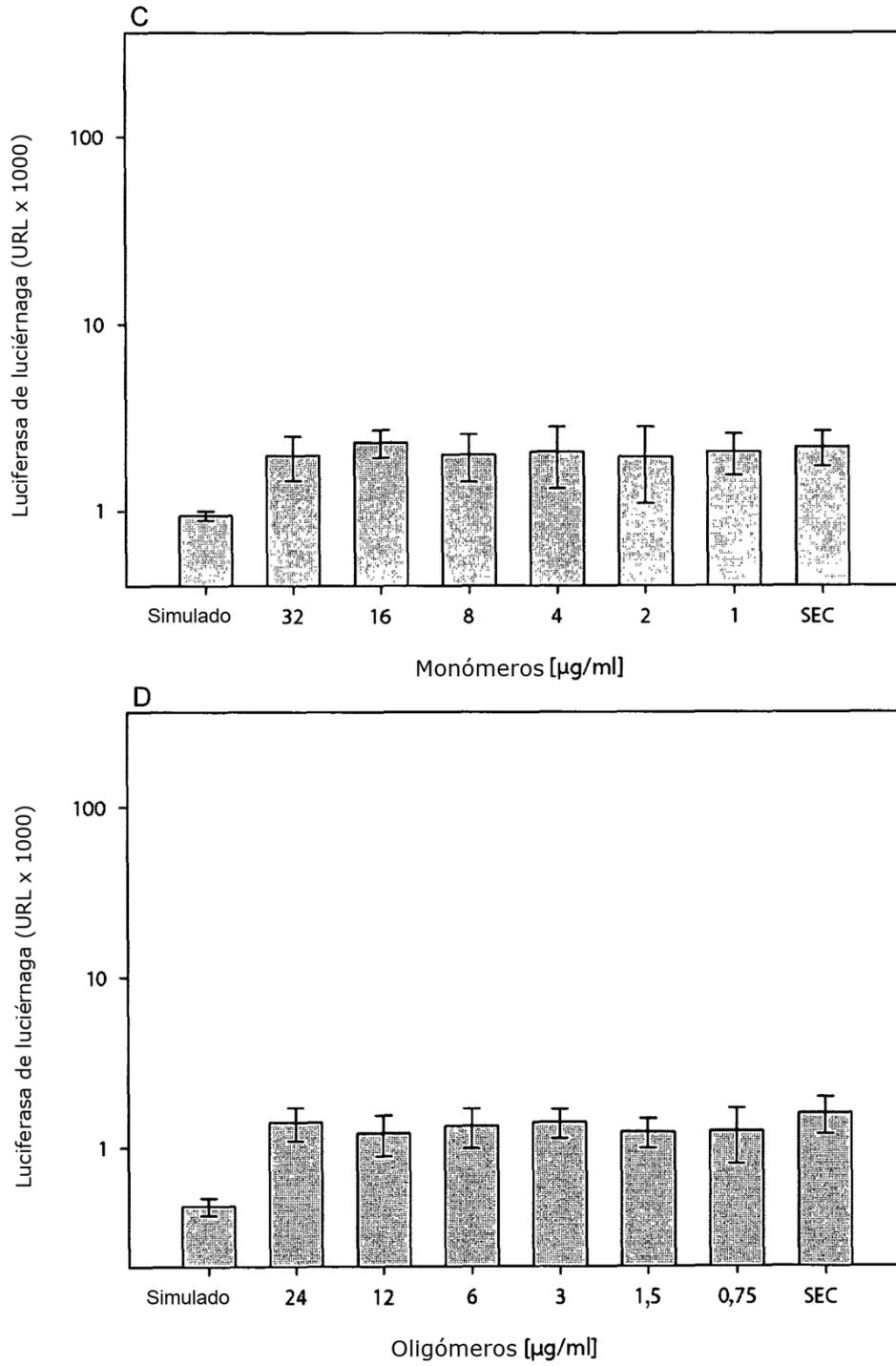


Figura 1 C-D (continuación)

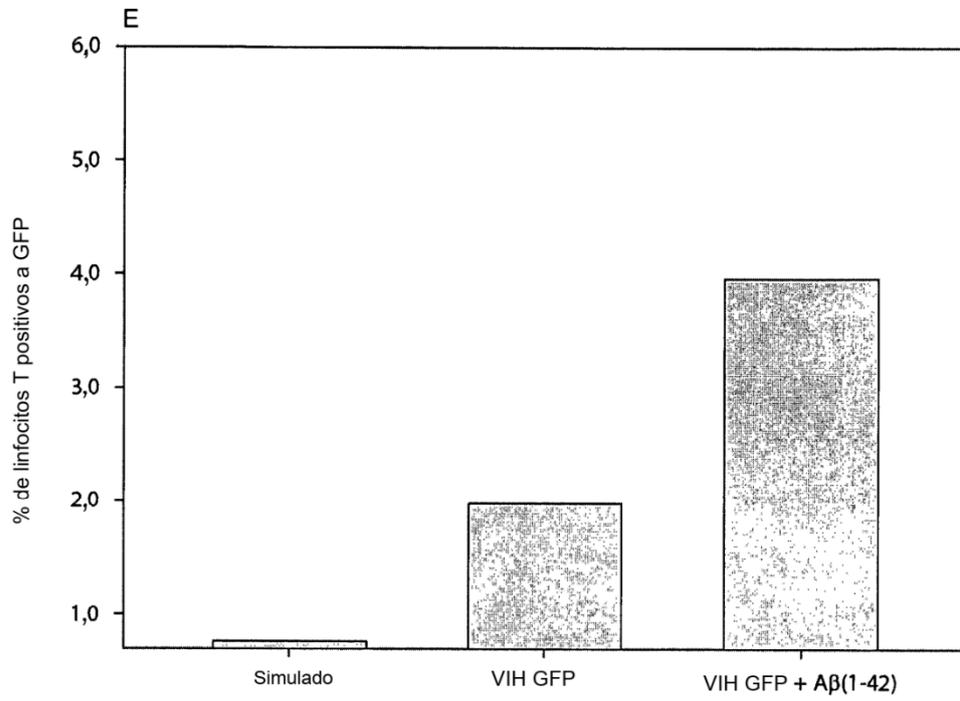


Figura 1 E (continuación)

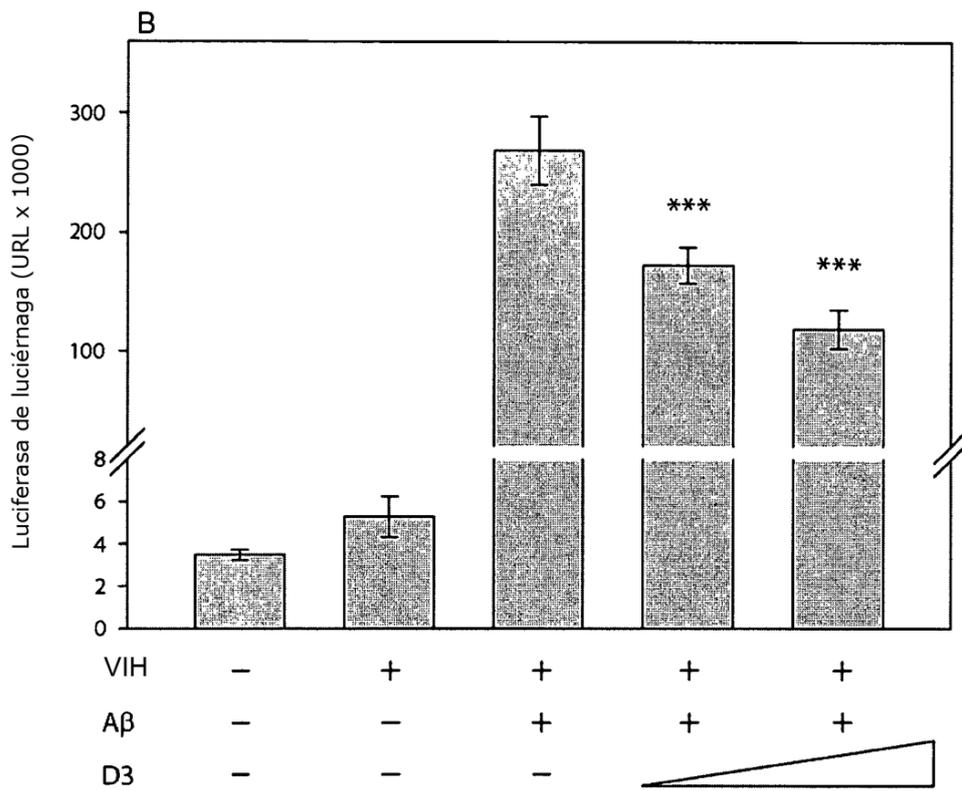
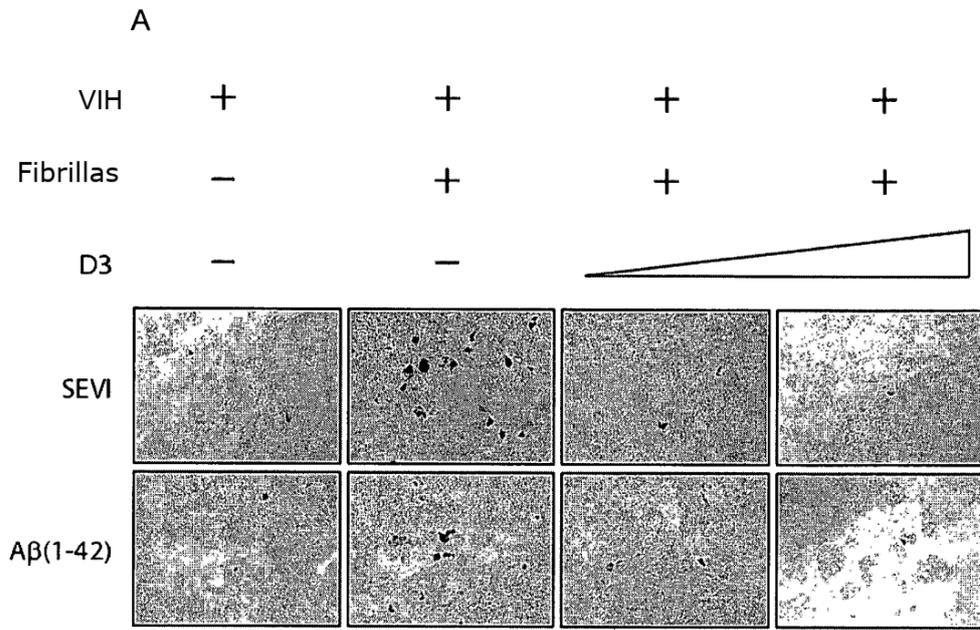


Figura 2 A-B

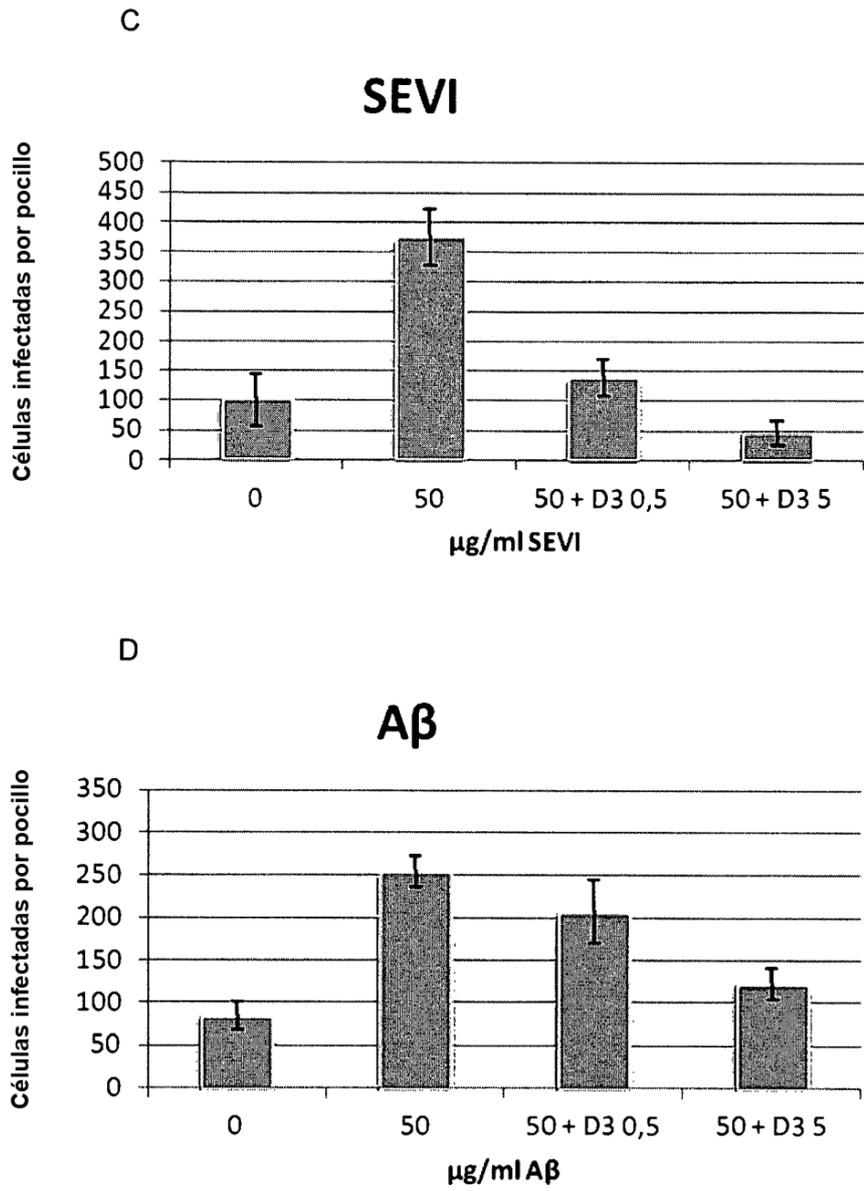


Figura 2 C-D (continuación)

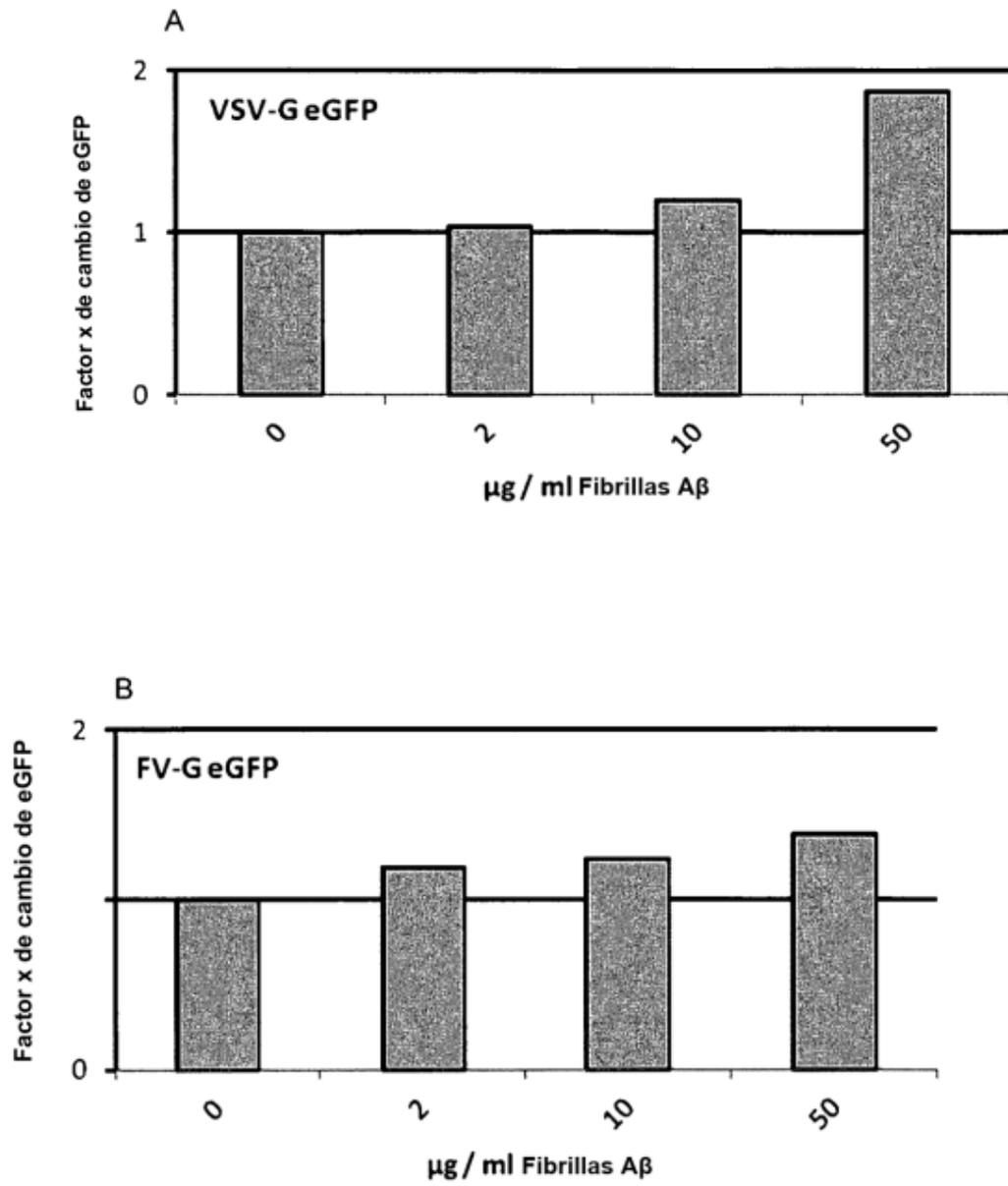


Figura 3 A-B

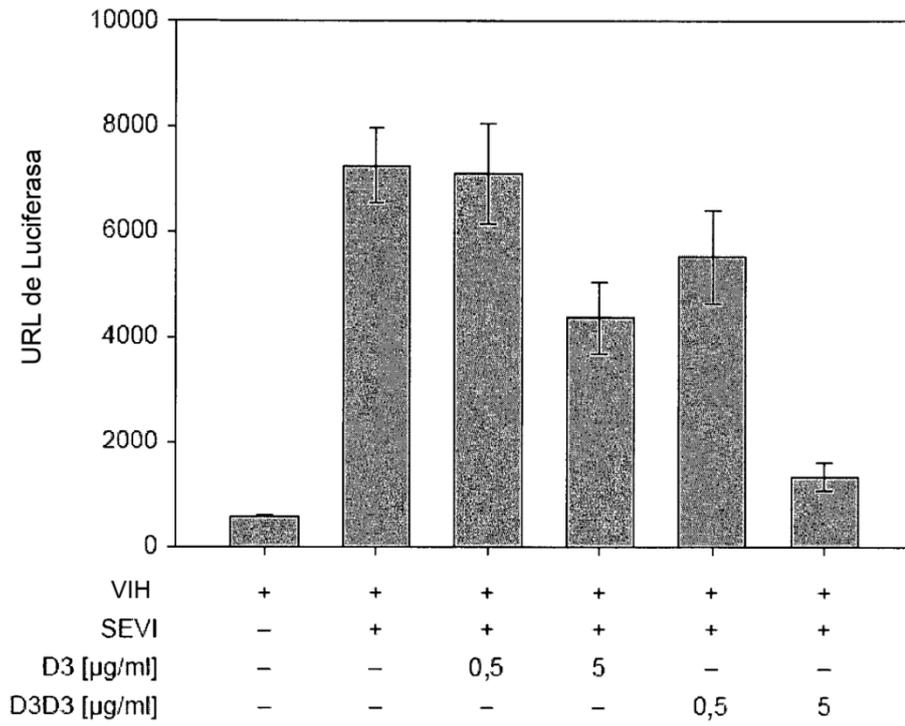


Figura 4