

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 791 225**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10 (2006.01)

A61K 38/19 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.03.2015 PCT/EP2015/054493**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.09.2015 WO15132294**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2015 E 15709139 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2020 EP 3113786**

54 Título: **Atenuación de la inflamación intrapulmonar**

30 Prioridad:

04.03.2014 AT 501582014

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

03.11.2020

73 Titular/es:

**APEPTICO FORSCHUNG UND ENTWICKLUNG
GMBH (100.0%)
Mariahilferstraße 136, Top 1.15
1150 Wien, AT**

72 Inventor/es:

FISCHER, BERNHARD

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 791 225 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

Atenuación de la inflamación intrapulmonar

[0001] La presente invención se refiere a la atenuación de la inflamación intrapulmonar mediante la administración de compuestos específicos.

5 **[0002]** La sepsis es una inflamación potencialmente mortal de todo el cuerpo causada por una infección grave. La sepsis puede continuar incluso después de que la infección que la causó desaparezca. La sepsis severa puede causar disfunción orgánica, incluida la disfunción pulmonar. (Levy, Mitchell M. ; Fink, Mitchell P. ; Marshall, John C. ; Abraham, Edward; Angus, Derek; Cook, Deborah; Cohen, Jonathan; Opal, Steven M. ; Vincent, Jean-Louis; Ramsay, Graham (2003). "Conferencia internacional de definiciones de sepsis SCCM / ESICM / ACCP / ATS / SIS 2001". *Critical Care Medicine* **31** (4): 1250-6.)

10 **[0003]** La sepsis es causada por la respuesta del sistema inmunitario a una infección grave, más comúnmente bacterias, pero también hongos, virus y parásitos en la sangre, el tracto urinario, los pulmones, la piel u otros tejidos. Se puede pensar que la sepsis cae dentro de un continuo desde la infección hasta el síndrome de disfunción orgánica múltiple. (Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM (2005). "Shock séptico". *Lancet* **365** (9453): 63-78.)

15 **[0004]** Los síntomas comunes de sepsis incluyen aquellos relacionados con una infección específica, pero generalmente acompañados de fiebre alta, piel caliente y enrojecida, frecuencia cardíaca elevada, hiperventilación, estado mental alterado, hinchazón y presión arterial baja.

20 La sepsis generalmente se trata con líquidos intravenosos y antibióticos. Si el reemplazo de líquidos no es suficiente para mantener la presión arterial, se pueden usar vasopresores. La ventilación mecánica y la diálisis pueden ser necesarias para apoyar la función de los pulmones y los riñones, respectivamente. El uso de corticosteroides es controvertido. La drotrecogina alfa activada (proteína C activada recombinante), originalmente comercializada para sepsis severa, no se ha encontrado que sea útil, y recientemente se retiró de la venta.

25 **[0005]** La sepsis y la inflamación pulmonar pueden determinarse por el grado de acumulación de marcadores y moduladores de inflamación (citocinas inflamatorias), como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), las células inmunes y los macrófagos alveolares en el líquido pulmonar.

[0006] El lipopolisacárido (LPS) se hace presente como glicolípidos de bacterias gramnegativas en bacteriemia sistémica y puede desencadenar una respuesta inflamatoria al punto de shock séptico e insuficiencia cardiocirculatoria. Los efectos sistémicos de LPS incluyen deterioro hemodinámico junto con aumento de la presión arterial pulmonar y leucopenia aguda.

30 **[0007]** Ahora se descubrió sorprendentemente que ciertos péptidos son activos en condiciones de sepsis sistémica o respuesta inflamatoria. La inhalación repetitiva de ciertos péptidos condujo a una expresión intrapulmonar significativamente menor de citocinas inflamatorias (IL-6, TNF- α) y enzimas (COX-2) en un modelo de sepsis principalmente sistémica. También se descubrió sorprendentemente que la aplicación repetitiva de tales péptidos atenúa la inflamación intrapulmonar a pesar de una respuesta inflamatoria sistémica inducida por la infusión de LPS.

35 **[0008]** La presente invención está definida por las reivindicaciones. En un aspecto, la presente descripción proporciona un compuesto ciclado de la secuencia de aminoácidos de fórmula



(SEQ ID NO: 9) en donde

40 X_1 comprende un aminoácido (secuencia) con 1 a 4, en particular 1 a 3 miembros, que comprende aminoácidos naturales o no naturales, en particular seleccionados del aminoácido (secuencia) C, KSP, K, ornitina, ácido 4-amino butanoico, β -alanina, y

X_2 comprende un aminoácido, seleccionado de aminoácidos naturales, en particular seleccionado del grupo C, D, G y E,

y en donde

45 X_1 comprende el aminoácido N-terminal en su primera posición izquierda y X_2 comprende el aminoácido C-terminal en su última posición correcta,

para uso en el tratamiento de la inflamación.

50 **[0009]** Un compuesto ciclado de fórmula I para uso en inflamación se designa aquí también como un "compuesto de (según) la presente invención". El uso de un compuesto ciclado de fórmula I en la inflamación también se designa aquí

como un "uso de (de acuerdo con) la presente invención".

[0010] En un compuesto de la presente invención, la ciclación se realiza por reacción de un grupo químico reactivo en uno de los aminoácidos de X₁, preferiblemente en el aminoácido terminal de X₁, y un grupo químico reactivo del aminoácido X₂, e.g.ej. por reacción de grupos reactivos del aminoácido C-terminal y el aminoácido N-terminal.

5 **[0011]** La "inflamación" según la presente invención incluye inflamación intrapulmonar, sepsis, inflamación sistémica y orgánica.

[0012] En un aspecto preferido, la presente invención proporciona el uso de la presente invención para el tratamiento de la inflamación intrapulmonar, en otro aspecto para el tratamiento de la sepsis, en un aspecto adicional para el tratamiento de la inflamación sistémica y en otro aspecto para el tratamiento de la inflamación de los órganos.

10 **[0013]** El tratamiento como se usa en este documento incluye tratamiento y prevención.

[0014] Los aminoácidos naturales útiles en una secuencia de aminoácidos en la presente descripción son conocidos y comprenden por ejemplo G, A, V, L, I, M, P, F, W, S, T, N, Q, C, U, Y, D, E, H, K, R.

[0015] Los aminoácidos no naturales útiles en una secuencia de aminoácidos en un método de la presente descripción comprenden

- 15 - aminoácidos que tienen la estructura principal de aminoácidos naturales, pero que son distintos de los aminoácidos alfa,
- aminoácidos naturales en la forma D, es decir, distintos de la forma L natural, es decir, aminoácidos naturales, en los que el grupo alquilo no está en la configuración L, sino en la configuración D,
- 20 - aminoácidos no naturales que comprenden de 2 a 12, tales como de 2 a 6 átomos de carbono, al menos un grupo amino, e.g. uno o dos, y al menos un grupo carboxi, e.g. uno o dos, e.g. opcionalmente al lado de sustituyentes que están presentes también en aminoácidos naturales, tales como e.g. OH, -CONH₂, -NH-C(=NH₂)NH₂, SH, (C₁₋₄)alquil-S-, fenilo, heterociclilo, e.g. heterociclilo que comprende 5 o 6 miembros del anillo y que comprende al menos un heteroátomo seleccionado de N, O, S, preferiblemente N, e.g. uno o dos N, opcionalmente anillados con otro anillo, tal como fenilo, e.g. incluyendo prolinilo, indolilo, imidazolilo;

25 **[0016]** En un aspecto específico, los aminoácidos no naturales en una secuencia de aminoácidos en un método de la presente descripción incluyen ornitina, ácido 4-aminobutírico, β-alanina, ácido 7-amino-heptanoico, ácido 6-amino-hexanoico.

[0017] En otro aspecto, un compuesto ciclado de la secuencia de aminoácidos de fórmula I incluye

- una secuencia SEQ ID NO: 1

30 *Ciclo*(CGQRETPEGAEAKPWYC)

en donde ambos residuos terminales de cisteína forman un puente disulfuro;

- una secuencia SEQ ID NO:2

Ciclo(KSPGQRETPEGAEAKPWYE)

35 en el que se forma un enlace amida entre el grupo amino unido al átomo de carbono ε del residuo de lisina N-terminal y el grupo carboxilo de cadena lateral unido al carbono γ del residuo de ácido glutámico C-terminal;

- una secuencia SEQ ID NO:3

Ciclo(KGQRETPEGAEAKPWYG)

en donde se forma un enlace amida entre el grupo amino unido al átomo de carbono ε de la cadena lateral del residuo de lisina N-terminal y el grupo carboxilo del residuo de glicina C-terminal;

- 40 - una secuencia SEQ ID NO:4

Ciclo(ornitina-GQRETPEGAEAKPWYG)

en donde se forma un enlace amida entre el grupo amino unido al carbono δ de la cadena lateral del residuo de ornitina N-terminal y el grupo carboxilo del residuo de glicina C-terminal;

- una secuencia SEQ ID NO:5

45 *Ciclo* (ácido 4-aminobutanoico-GQRETPEGAEAKPWYD)

en donde se forma un enlace amida entre el grupo amino del residuo de ácido 4-aminobutanoico N-terminal y el grupo carboxilo de cadena lateral unido al carbono β del residuo de ácido aspártico C-terminal;

- una secuencia SEQ ID NO:6

Ciclo (β -alanina-GQRETPEGAEAKPWYE)

5 en donde se forma un enlace amida entre el grupo amino del residuo de β -alanina N-terminal (ácido 3-aminopropanoico) y el grupo carboxilo de cadena lateral unido al carbono γ del residuo de ácido glutámico C-terminal,

- una secuencia SEQ ID NO: 7

10 {[7-amino-heptanoic acid-GQRETPEGAEAKPWY] (ciclo 1-16)},

los aminoácidos están unidos peptídicamente desde el aminoácido C-terminal tirosina al aminoácido N-terminal glicina, mientras que el aminoácido C-terminal tirosina está enlazado al aminoácido N-terminal glicina a través de un enlace amida entre el nitrógeno del grupo amino de la glicina N-terminal y el carbono C1 del grupo carboxilo del ácido 7-amino-heptanoico, por un lado, y a través de un enlace amida entre el nitrógeno del grupo amino del ácido 7-amino-heptanoico y el carbono del grupo carboxilo de la tirosina C-terminal, por otro lado, de modo que el compuesto no tiene ni un grupo amino N-terminal, ni un grupo carboxilo C-terminal, y

- una secuencia SEQ ID NO: 8

{[Ácido 6-amino-hexanoico-GQRETPEGAEAKPWYG] (ciclo 1-17)}

20 los aminoácidos están unidos peptídicamente desde el aminoácido C-terminal glicina al aminoácido N-terminal glicina, mientras que el aminoácido C-terminal glicina está unida al aminoácido N-terminal glicina a través de un enlace amida entre el nitrógeno del grupo amino de la glicina N-terminal y el carbono C1 del grupo carboxilo del ácido 6-amino-hexanoico, por un lado, y a través de un enlace amida entre el nitrógeno del grupo amino del ácido 6-amino-hexanoico y el carbono del grupo carboxilo de la glicina C-terminal, por otro lado, de modo que el compuesto no tiene ni un grupo amino N-terminal, ni un grupo carboxilo C-terminal.

30 **[0018]** Una realización de la presente invención es un compuesto ciclado de fórmula I de la secuencia de aminoácidos SEC ID N°: 5, concretamente ciclo (ácido 4-aminobutanoico-GQRETPEGAEAKPWYD), en el que se forma un enlace amida entre el grupo amino del terminal N Residuo de ácido 4-aminobutanoico y el grupo carboxilo de cadena lateral unido al carbono β del residuo de ácido aspártico C-terminal;

[0019] Un compuesto de la presente invención incluye un compuesto en cualquier forma, e.g. en forma libre y en forma de sal, e.g. en un entorno biológico, un compuesto ciclado de la presente invención normalmente está en forma de una sal.

[0020] En otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula I en forma de una sal.

35 **[0021]** Dichas sales incluyen preferiblemente sales farmacéuticamente aceptables, aunque se incluyen sales farmacéuticamente inaceptables, e.g. para fines de preparación / aislamiento / purificación.

[0022] En un entorno biológico, una sal de un compuesto ciclado de la presente invención es normalmente un hidrocloreuro.

40 **[0023]** Un compuesto ciclado de la presente invención en forma libre puede convertirse en un compuesto correspondiente en forma de una sal; y viceversa.

[0024] Un compuesto de la presente invención puede existir en forma de isómeros y mezclas de los mismos; e.g. ej. isómeros ópticos. Un compuesto de la presente invención puede, e.g. contener átomos de carbono asimétricos y, por lo tanto, puede existir en forma de enantiómeros o diastereoisómeros y mezclas de los mismos, e.g. racematos. Un compuesto de la presente invención puede estar presente en la configuración (R)-, (S)- o (R, S)- preferiblemente en la configuración (R)- o (S)- con respecto a cada uno de los sustituyentes en dichos átomos de carbono asimétrico en un compuesto de la presente invención. Las mezclas isoméricas se pueden separar según sea apropiado, e.g. de acuerdo, e.g. análogamente, a un método convencional, para obtener isómeros puros. La presente invención incluye un compuesto de la presente invención en cualquier forma isomérica y en cualquier mezcla isomérica. En el caso de los aminoácidos naturales, la configuración de los sustituyentes es como en los aminoácidos naturales.

50 **[0025]** Un compuesto de la presente invención puede prepararse según sea apropiado, e.g. de acuerdo, e.g. análogamente, a un método convencional, e.g. o como se especifica en este documento, e.g. mediante síntesis de péptidos en fase sólida, opcionalmente de acuerdo con la estrategia de protección de fluorenilmetoxycarbonilo / t-butilo

en resina de cloruro de 2-clorotritilo usando agentes de acoplamiento apropiados, tales como diisopropil carbodiimida y / o N-hidroxibenzotriazol y solvente apropiado, e.g. N, N-dimetilformamida. Los aminoácidos protegidos se pueden acoplar sucesivamente a la cadena peptídica, comenzando con el aminoácido C-terminal. La desprotección de los grupos protegidos con fluorenilmetoxicarbonilo se puede llevar a cabo con una base, e.g. piperidina, tal como piperidina al 20% en un disolvente apropiado, tal como N-N-dimetilformamida. La escisión del péptido completado, opcionalmente (parcialmente) protegido de la resina se puede llevar a cabo según sea apropiado, e.g. con un ácido, como el ácido acético en un disolvente apropiado, e.g. hidrocarburo halogenado, tal como CH₂Cl₂, e.g. en una mezcla 1: 1 de ácido acético y CH₂Cl₂.

[0026] En el caso de péptidos que contienen cisteína, después de la escisión de la resina, se puede llevar a cabo la desprotección de la cadena lateral, si se desea, e.g. con un ácido fuerte, como el ácido trifluoroacético (TFA), e.g. 95% TFA / 5% H₂O. La ciclación para obtener un enlace disulfuro puede llevarse a cabo mediante la oxidación de residuos de cisteína terminales, e.g. alcanzable por aireación del péptido lineal bruto a pH 8,5 durante 90 horas. El producto peptídico bruto obtenido puede purificarse, e.g. por cromatografía, e.g. por cromatografía líquida de presión media en fase inversa (RP-MPLC) en una columna apropiada, tal como una columna de gel de sílice RP-C18, usando de manera conveniente un gradiente de eluyente, tal como un gradiente de acetonitrilo al 5% - 40%. Se puede reemplazar un contra-ión de trifluoroacetato, e.g. por acetato, e.g. sobre una columna, como sobre una columna Lewatit MP64 (forma de acetato). Después de un lavado final en agua, el péptido purificado como sal de acetato puede liofilizarse y puede obtenerse en forma, e.g. polvo blanco de un color claro.

[0027] En el caso de péptidos libres de cisteína, la etapa de ciclación puede llevarse a cabo según sea apropiado, e.g. todavía en el péptido lineal parcialmente protegido, después de la escisión de la resina. Después de la ciclación selectiva de los péptidos libres de cisteína, puede llevarse a cabo una desprotección de cadena lateral en TFA, si es necesario. Se puede llevar a cabo una etapa de purificación, e.g. por cromatografía, e.g. por RP-MPLC preparativo. A partir del péptido así obtenido, puede llevarse a cabo la sustitución del ion trifluoroacetato por acetato, e.g. como se describió anteriormente. La liofilización de la forma de acetato del péptido también se puede llevar a cabo, e.g. como para los péptidos que contienen cisteína.

[0028] Las masas moleculares de los péptidos obtenidos pueden confirmarse mediante espectrometría de masas por ionización por electropulverización o MALDI-TOF-MS. Se puede determinar la pureza, e.g. por cromatografía líquida analítica de alto rendimiento.

[0029] Dichos péptidos y su preparación son e.g. descritos en WO 2011/085423.

[0030] Los compuestos de la presente descripción, e.g. incluyendo un compuesto de fórmula I, exhiben una actividad farmacológica interesante y, por lo tanto, son útiles como productos farmacéuticos. Por ejemplo, los resultados de un estudio, como se indica a continuación, demostraron que tras la aplicación de un compuesto de la presente invención se atenúa la expresión intrapulmonar de genes marcadores inflamatorios. Estos hallazgos proporcionan por primera vez un efecto anti-inflamatorio en lesiones pulmonares in vivo clínicamente relevantes.

[0031] Un compuesto de la presente invención puede usarse como un producto farmacéutico para el tratamiento de la inflamación en forma de una composición farmacéutica.

[0032] En otro aspecto, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la inflamación, que comprende un compuesto de la presente invención,

y

un método de tratamiento de inflamación que comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención a un mamífero que necesita dicho tratamiento.

[0033] Para el tratamiento de la inflamación con un compuesto de la presente invención, la dosis apropiada variará, por supuesto, dependiendo de, por ejemplo, la naturaleza química y los datos farmacocinéticos del compuesto de la presente invención utilizado, el huésped individual, e.g. el peso corporal, la edad y la condición individual de un sujeto que necesita dicho tratamiento, el modo de administración y la naturaleza y gravedad de las condiciones que se están tratando.

[0034] Sin embargo, en general, para obtener resultados satisfactorios en mamíferos más grandes, por ejemplo humanos, una dosis diaria indicada incluye un rango

- de aproximadamente 0,0001 g a aproximadamente 1,5 g, tal como 0,001 g a 1,5 g;

- de aproximadamente 0,001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, como 0,01 mg/kg de peso corporal a 20 mg/kg de peso corporal,

por ejemplo administrado en dosis divididas hasta cuatro veces al día.

[0035] Por lo general, los niños pueden recibir la mitad de la dosis para adultos.

[0036] Un compuesto de la presente invención puede administrarse según sea apropiado.

[0037] Un compuesto de la presente invención puede administrarse por cualquier ruta convencional, por ejemplo enteralmente, e.g. incluyendo administración nasal, bucal, rectal, oral; parenteralmente, e.g. incluyendo infusión intravenosa, intraarterial, intramuscular, intracardiaca, subcutánea, intraósea, transdérmica (difusión a través de la piel intacta), transmucosa (difusión a través de una membrana mucosa), administración inhalatoria, e.g. inhalación oral como aerosol; e.g. en forma de tabletas recubiertas o no recubiertas, cápsulas, soluciones (inyectables), soluciones sólidas, suspensiones, dispersiones, dispersiones sólidas; e.g. en forma de ampollas, viales, en forma de cremas, geles, pastas, inhaladores en polvo, espumas, tinturas, barras de labios, gotas, aerosoles, o en forma de supositorios.

[0038] Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, o en forma libre; opcionalmente en forma de solvato. Un compuesto de la presente invención en forma de una sal y / o en forma de un solvato exhibe el mismo orden de actividad que un compuesto de la presente invención en forma libre.

[0039] Sorprendentemente, se encontró que la administración de un compuesto ciclado de la presente invención en el mejor de los casos se puede realizar por administración inhalatoria.

[0040] Preferiblemente, un compuesto de la presente invención se administra por inhalación, e.g. en forma de un aerosol, bien una solución acuosa o un liofilizado de un compuesto de la presente invención, re-disuelto en agua, se somete a inhalación. Sorprendentemente, se encontró que la solución acuosa de un compuesto de la presente descripción que comprende la invención, e.g. de (una de) las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 9 también es estable durante un tiempo bastante largo, incluso sin la adición de estabilizadores y / o auxiliares que generalmente se usan. También se descubrió que el tamaño de las gotitas vaporizadas para inhalación que comprenden un compuesto disuelto de la presente invención también puede tener una influencia ventajosa. E.g. en una realización preferida, el tamaño de gota de (la mayoría de) las gotas atomizadas no supera los 5 µm (límite superior), para obtener un resultado particularmente exitoso. El límite inferior apropiado del tamaño de gota depende solo de la viabilidad de las gotas.

[0041] Para la administración por inhalación, en primer lugar, un compuesto ciclado de la presente descripción que comprende la invención, e.g. de (una de) las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 9 se disuelve en agua, para obtener una solución acuosa y la solución obtenida opcionalmente se filtra, e.g. para eliminar impurezas. El filtrado obtenido opcionalmente se liofiliza, e.g. para el caso de que se desee una forma almacenable. Sorprendentemente, se ha encontrado que un compuesto liofilizado de la presente invención así obtenido es estable durante un largo período. La estabilidad de los liofilizados se determinó después de hasta 24 meses a 2-8 ° C y hasta 6 meses a 25 ° C con una humedad relativa del 60%. Se utilizaron métodos analíticos habituales de laboratorio, e.g. inspección visual y HPLC invertida. Después de un almacenamiento de 24 meses a 2-8 ° C, también se determinó la actividad biológica del troquel mediante experimentos de fijación de membranas. Los liofilizados resultaron ser estables en las condiciones descritas, la apariencia no cambió, el contenido del péptido ciclado de fórmula I y la pureza mostraron solo pequeñas variaciones, si es que las hubo. También la actividad biológica se mantuvo prácticamente sin cambios.

[0042] Un compuesto de la presente invención puede usarse para cualquier método o uso como se describe en el presente documento solo o en combinación con una o más, al menos una, otra, segunda sustancia farmacológica.

[0043] Las combinaciones incluyen combinaciones fijas, en las que un compuesto de la presente invención y al menos una segunda sustancia farmacológica están en la misma formulación; kits, en los que un compuesto de la presente invención y al menos una segunda sustancia farmacológica en formulaciones separadas se proporcionan en el mismo envase, e.g. con instrucciones para la coadministración; y combinaciones libres en las que un compuesto de la presente invención y al menos una segunda sustancia farmacológica se envasan por separado, pero se dan instrucciones para la administración concomitante o secuencial.

[0044] El tratamiento con combinaciones de acuerdo con la presente invención puede proporcionar mejoras en comparación con el tratamiento único.

[0045] Las composiciones farmacéuticas según la presente invención pueden fabricarse de acuerdo con, e.g. análogamente, a un método convencional, e.g. mediante procesos de mezcla, granulación, recubrimiento, disolución o liofilización. Las formas de dosificación unitaria pueden contener, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1500 mg, tal como 1 mg a aproximadamente 1000 mg.

[0046] Las composiciones farmacéuticas que comprenden una combinación de la presente invención y las composiciones farmacéuticas que comprenden un segundo fármaco como se describe en el presente documento, pueden proporcionarse según sea apropiado, e.g. de acuerdo, e.g. análogamente, a un método como el convencional, o como se describe en el presente documento para una composición farmacéutica de la presente invención.

[0047] Por el término "segunda sustancia farmacológica" se entiende un fármaco quimioterapéutico, especialmente cualquier agente quimioterapéutico distinto de un compuesto de la presente invención, tal como un compuesto de fórmula I.

[0048] Para la caracterización de los efectos de un compuesto de la presente invención sobre la inflamación, tal como la inflamación intrapulmonar, se examinó un modelo porcino de sepsis inducida por lipopolisacárido (LPS). Como compuesto activo, un compuesto de fórmula I de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO.5.

Métodos

5 [0049] Después de la aprobación del comité de cuidado animal (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, Koblenz, Alemania; número de aprobación 23 177-07 / G12-1-058) 18 cerdos juveniles (peso 25-27 kg) fueron examinados en un entorno aleatorizado, ciego para el investigador.

Anestesia e Instrumentación

10 [0050] Después de la sedación con inyección intramuscular de ketamina (8 mg kg⁻¹) y midazolam (0.2 mg kg⁻¹) y la preparación del acceso vascular, la anestesia fue inducida y mantenida por administración intravenosa de propofol y fentanilo (8-12 mg kg⁻¹ h⁻¹ / 0.1-0.2 mg h⁻¹) Una dosis única de atracurio (0.5 mg kg⁻¹) se aplicó para facilitar la intubación orotraqueal. La ventilación (respirador: AVEA®, CareFusion, EE. UU.) se inició en modo de presión controlada con un volumen corriente (V_t) de 8 ml kg⁻¹, presión positiva al final de la espiración (PEEP) de 5 cmH₂O, FiO₂ de 0.3-0.4 y una frecuencia respiratoria variable para mantener la normocapnia. Se infundió continuamente una solución salina equilibrada (Sterofundin iso, B. Braun, Alemania) a una velocidad de 10 ml kg⁻¹ h⁻¹. Se colocaron catéteres vasculares guiados por ultrasonido en la técnica de Seldinger y en condiciones estériles: se insertaron una línea arterial, un catéter de salida cardíaco con contorno de pulso (PiCCO, Pulsion Medical Systems, Alemania) y una línea venosa central a través del acceso a la vena femoral. Se colocó un introductor francés 7.5 para un catéter de arteria pulmonar a través de la vena yugular interna derecha. Los parámetros hemodinámicos ventilatorios y extendidos se registraron continuamente (Datex S / 5, GE Healthcare, Alemania). La temperatura corporal se midió mediante una sonda rectal y la normotermia se mantuvo mediante el calentamiento de la superficie corporal.

Protocolo experimental

25 [0051] Los siguientes parámetros de línea base de la instrumentación se evaluaron en estado saludable. La figura 1 resume el protocolo experimental: la inflamación sistémica fue inducida por la infusión continua de LPS (*Escherichia coli* serotipo O111: B4, Sigma-Aldrich, Suiza) durante una hora a 100 µg kg⁻¹ h⁻¹, seguido de 10 µg kg⁻¹ h⁻¹ durante todo el experimento. La infusión de dosis alta inicial se combinó con una configuración de ventilación no protectora (V_t 25 mL kg⁻¹, cero PEEP, FiO₂ 1.0) para agregar un componente VILI. Posteriormente, el modo de ventilación se cambió a una configuración de protección pulmonar más: V_t de 8 mL kg⁻¹, PEEP 5 cm H₂O, FiO₂ de 0.4-0.5, y una frecuencia respiratoria variable para mantener un pH > 7.2. Los animales fueron monitoreados durante seis horas después de la inducción de sepsis. Durante la fase de inducción, un no-participante asignó al azar a los animales en dos grupos y preparó la solución de péptido como se describió anteriormente (Hartmann EK y otros, *Acta anaesthesiologica Scandinavica* 2013, **57** (3): 334-341) para inhalación endotraqueal cegada.

[0052] En el presente estudio se investigaron 2 grupos:

35 Grupo (1) animales, a los cuales 1 mg kg⁻¹ de un compuesto de fórmula I de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5 se administró a cero y tres horas;

Grupo (2) de animales, como grupo de control (CTRL), al que se administró una solución de vehículo a cero y tres horas.

40 [0053] Para mantener la estabilidad hemodinámica (presión arterial media > 60 mmHg) se administraron bolos de fluido adicionales (150 ml de solución salina equilibrada o almidón de hidroxietilo una vez cada hora). La inestabilidad persistente se trató mediante infusión continua de noradrenalina venosa central. Al final de los experimentos, los animales fueron sacrificados con anestesia general profunda mediante inyección intravenosa de propofol (200 mg) y cloruro de potasio (40 mval).

Parámetros hematológicos

45 [0054] Los valores de gases en sangre se obtuvieron utilizando un dispositivo Rapidlab 248 (Bayer Healthcare, Alemania). Los parámetros hematológicos fueron muestreados durante la línea base, la inducción de sepsis y después de tres y seis horas. Los niveles plasmáticos de lactato, leucocitos y recuentos de plaquetas fueron analizados por el Instituto de Medicina de Laboratorio, Centro Médico de la Universidad Johannes Gutenberg. Los niveles plasmáticos de IL-6 y TNF-α se determinaron cuantificando los ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Porcine IL-6 Quantikine ELISA, Porcine TNF-α Quantikine ELISA, R&D Systems, Alemania).

Evaluación histopatológica y del contenido pulmonar en agua.

[0055] Se extrajeron los pulmones en bloque después de la toracotomía. Una puntuación macroscópica de lesión pulmonar se evaluó como se describió previamente en detalle (Lim CM et al, *Lung* 2003, **181** (1): 23-34). Se examinaron cuatro segmentos ventrales y dorsales (cada uno superior / inferior derecho, superior / inferior izquierdo)

de la superficie pulmonar para detectar hemorragia y congestión (2 puntos > 50%, 1 punto para <50%, 0 puntos para cambios nulos o mínimos). El pulmón derecho se fijó en formol tamponado al 10%. Muestras de tejido representativas fueron embebidas en parafina y cortadas para tinción con hematoxilina y eosina. Un investigador cegado bajo la supervisión de un patólogo senior realizó la evaluación histopatológica. En diferentes regiones pulmonares (periferia no dependiente y bronquial, periferia dependiente y bronquial) los cambios morfológicos se clasificaron según siete criterios (edema alveolar, edema intersticial, hemorragia, infiltración inflamatoria, daño epitelial, microatelectasia y sobredistensión). La severidad de cada parámetro varió de 0 (sin ocurrencia) a 5 puntos (campo completo). Para cada región pulmonar utilizamos el valor medio de cuatro campos de microscopía no superpuestos. La suma de las puntuaciones regionales en todas las regiones pulmonares se sumaron a una puntuación máxima de lesiones de 140 puntos (7 parámetros x 5 puntos máximos por parámetro de 4 regiones pulmonares). Además, la distribución regional de cada parámetro se evaluó en las regiones pulmonares dependientes versus no dependientes. Procedimientos de puntuación similares se describieron anteriormente (Spieth PMet al, *Intensive Care Med* 2007, **33** (2): 308-314; Wang HM y otros, *Eur Surg Res* 2010, **45** (3-4): 121-133). El pulmón izquierdo se pesó inmediatamente después de la extracción y luego se secó a 60 ° C durante 72 horas para determinar el peso seco y la relación húmedo / seco (W / D).

Análisis de expresión génica

[0056] Para determinar los niveles de ARNm de inflamación intrapulmonar de citocinas proinflamatorias se cuantificaron interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina -6 (IL-6), TNF- α y las enzimas prostaglandina G / H sintasa-2 (COX-2) y óxido nítrico sintasa (iNOS). Los niveles de expresión de anfiregulina y tenascina-c se examinaron como sustitutos del estrés mecánico y la remodelación. Se recogieron cuatro muestras representativas del pulmón izquierdo (lóbulo superior / inferior, cada una dependiente / no dependiente), se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 ° C. El procedimiento de extracción y cuantificación de ARN por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Lightcycler 480 PCR System, Roche Applied Science, Alemania) se realizó como se describió anteriormente en detalle. [17-19] Los datos de expresión de ARNm se normalizaron contra la peptidilproil isomerasa A (PPIA) como gen de control.

Análisis estadístico

[0057] Los datos se expresan como gráficos de caja de mediana y rango intercuartil (IQR), respectivamente. Las comparaciones intergrupales se probaron con la prueba U de Mann-Whitney. Si se realizaron múltiples pruebas, los valores de P se ajustaron mediante la corrección de Bonferroni. Los cursos de tiempo intragrupo de parámetros medidos de forma repetitiva fueron analizados por Friedman ANOVA en rangos y post-hoc Student-Newman-Keuls-Test. Los valores de P inferiores a 0,05 se consideraron significativos.

[0058] Los datos fisiológicos (ventilador y datos hemodinámicos) que figuran en la Tabla 1 se analizaron solo de forma exploratoria. Se utilizó el software estadístico SigmaPlot 11.0 (Systat Inc., EE. UU).

[0059] En la Tabla 1 se exponen los datos del ventilador y hemodinámicos. Los datos se presentan como mediana (IQR), sin diferencias intergrupales relevantes. V_i : volumen corriente; $P_{endinsp}$: presión inspiratoria final; PEEP: presión positiva al final de la espiración; RR: frecuencia respiratoria; FiO_2 : fracción de oxígeno inspirado; I: E: inspiración para el cociente de vencimiento; R_{aw} : resistencia de la vía aérea; EVLW: contenido extravascular de agua pulmonar; $PaCO_2$: presión parcial arterial de dióxido de carbono; MAP: presión arterial media; CO: gasto cardíaco; CVP: presión venosa central; MPAP: presión arterial pulmonar media; NA: dosis de noradrenalina.

Resultados

Datos fisiológicos

[0060] La Tabla 1 resume los cuadros de tiempo de los parámetros hemodinámicos y respiratorios. Durante sepsis y ventilación, el cociente de presión arterial parcial de oxígeno y FiO_2 (PaO_2 / FiO_2) no disminuyó. Luego PaO_2 / FiO_2 y distensibilidad pulmonar dinámica (C_{dyn}) disminuyó significativamente en tres horas en ambos grupos y persistió sin recuperación (Fig. 2a y 2b). Los dos grupos no mostraron diferencias significativas. La hemodinámica se mantuvo estable durante la línea base y la inducción de sepsis / VILI, mientras que se requirió una infusión continua de noradrenalina durante más de seis horas en ambos grupos en dosis similares.

Respuesta inflamatoria sistémica y pulmonar

[0061] La infusión de LPS condujo a una leucopenia sistémica sostenida y persistente. Esto fue acompañado por disminuciones en el recuento de plaquetas y aumento de los niveles de lactato. Los niveles plasmáticos de IL-6 y TNF- α aumentaron significativamente en ambos grupos con un pico dentro de las tres horas (Fig. 3a, 3b, 3c, 3d). La cuantificación de ARNm intrapulmonar produjo una expresión global significativamente menor de COX-2 ($p = 0.003$), TNF- α ($p = 0.041$) e IL-6 ($p = 0.043$) después de la inhalación de un compuesto de fórmula I de la secuencia de aminoácidos SEC ID NO: 5, con menos diferencias en las expresiones IL-1 β e iNOS (Fig. 4a, 4b, 4c, 4d; y Fig. 5a, 5b, 5c y 5d). Además, se detectó una disminución de la expresión de tenascina-c ($p = 0,015$). No se detectaron variaciones locorregionales relevantes.

La Tabla 1 resume los datos fisiológicos (ventilador y datos hemodinámicos), en particular los cuadros de tiempo de los parámetros hemodinámicos y respiratorios durante la sepsis y la ventilación.

Parámetro	SEQ ID No:5				CTRL			
	Línea Base	Sepsis/VILI	3h	6h	Línea Base	Sepsis/VILI	3h	6h
<u>Ventilación</u>								
V _t (ml kg ⁻¹)	8,4(0,6)	25,6 (1,7)	8,5(0,6)	8,6(0,4)	8,3(0,4)	25,8 (0,4)	8,3(0,5)	8,3(0,7)
P _{endinsp} (cmH ₂ O)	14 (1)	22 (3)	22 (2)	19 (3)	13 (2)	21 (3)	22 (3)	19 (4)
RR (min ⁻¹)	29 (17)	9 (2)	34 (8)	32 (8)	35 (7)	9 (2)	33 (9)	33 (12)
PEEP (cmH ₂ O)	6 (1)	1 (0,2)	6 (1)	5 (1)	6 (1)	1 (0,3)	5 (1)	5 (3)
Fio ₂	0,4	1,0	0,4	0,4	0,4	1,0	0,4	0,4
I:E	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2
R _{aw} (cmH ₂ OL ⁻¹ s ⁻¹)	10 (2)	12 (5)	11 (2)	11 (2)	10 (2)	12 (2)	10 (2)	8 (4)
EVLW (ml kg ⁻¹)	10 (2)	11 (2)	12 (2)	13 (4)	10 (1)	13 (2)	13 (3)	14 (1)
PaCO ₂ (mmHg)	45 (6)	35 (85)	43 (6)	43 (5)	44 (3)	36 (5)	45 (3)	41 (6)
<u>Hemodinámica</u>								
MAP (mmHg)	90 (14)	100 (17)	61 (14)	66 (15)	100 (21)	111 (18)	65 (24)	60 (12)
CO (Lmin ⁻¹)	4,5 (0,4)	4,5 (0,6)	3,2 (0,9)	3,7 (1,0)	4,5 (0,6)	4,2 (0,9)	3,1 (0,2)	3,4 (0,9)
CVP (mmHg)	11 (4)	10 (3)	11 (4)	13 (3)	11 (2)	11 (3)	13 (2)	14 (3)
MPAP (mmHg)	22 (2)	23 (3)	33 (4)	30 (12)	21 (4)	25 (4)	39 (5)	30 (12)
NA (µg kg-1min-1)	0	0	0,2 (1,3)	0,8 (0,4)	0	0	0,4 (0,7)	0,9 (3,4)

5 Parámetros patológicos

[0062] Las evaluaciones post mortem macroscópicas e histológicas arrojaron la presencia de una lesión pulmonar sostenida en ambos grupos. Los animales del grupo (1) muestran una tendencia hacia un daño menos pronunciado, así como una mayor relación W / D (Fig. 6a, 6b, 6c). Las características más relevantes de la puntuación histopatológica fueron la infiltración inflamatoria, así como el desarrollo de áreas sobredistendidas y atelectasia con formación de edema que desempeña un papel menor. El grupo animal CTRL (2) presentó un grado más alto de hemorragia como se establece en la Tabla 2. No se detectaron diferencias relevantes con respecto a la distribución ventral a dorsal.

[0063] Distribución de la lesión pulmonar histopatológica resumida en la figura 3. Los datos de las regiones pulmonares (cada una de las cuales contiene periferia y área bronquial) se expresan como mediana (RIC). * indica P <0.05 vs. Grupo (1).

La Tabla 2 muestra el desarrollo de hemorragia de formación de edema alveolar e intersticial, infiltración inflamatoria, destrucción epitelial, microacetelectasia y sobredistensión en animales tratados con un compuesto de SEQ ID NO: 5 versus animales control (CTRL)

	no dependiente		dependiente	
Parámetro	SEQ ID No. 5	CTRL	SEQ ID No. 5	CTRL
edema alveolar	0 (0)	0 (0,2)	0 (0,1)	0 (0,4)
edema intersticial	0,9 (1,1)	1,1 (1,3)	1,3 (0;8)	1,0 (0,8)
Hemorragia	0 (0)	1,1 (1,6)*	0,1 (0,8)	0,9 (1,3)*
infiltración inflamatoria	3,8 (1,4)	3,5 (0,9)	3,4 (1,6)	3,6 (1,2)
destrucción epitelial	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
microatelectasia	3,8 (1,4)	3,9 (1,6)	3,8 (2,4)	3,5 (2,2)
sobredistensión	4,1 (0,9)	3,6 (1,8)	3,5(1,7)	3,5 (1,2)

Discusión

5 **[0064]** El resultado clave del presente estudio que investiga la influencia de la SEQ ID: NO 5 por inhalación de péptidos en un modelo porcino de lesión pulmonar inducida por LPS es que la SEQ ID: NO 5-péptido redujo significativamente la respuesta inflamatoria intrapulmonar a las 6 horas después de la infusión.

Características del modelo

10 **[0065]** El LPS se hace presente como glicolípidos de bacterias gram-negativas en la bacteriemia sistémica y puede desencadenar una respuesta inflamatoria hasta el punto de shock séptico y fallo cardiocirculatorio. Los efectos sistémicos de LPS en cerdos incluyen deterioro hemodinámico junto con aumento de la presión arterial pulmonar y leucopenia aguda (Matute-Bello G et al, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008, **295** (3): L379-399), lo cual es consistente con los hallazgos de este estudio. Los cambios intrapulmonares debidos a la infusión de LPS incluyen la acumulación de leucocitos y macrófagos alveolares, así como la lesión endotelial (Wang HM y otros, *Eur Surg Res* 2008, **40** (4): 305-316). A diferencia de otros modelos (es decir, lavado broncoalveolar), la sepsis inducida por LPS no genera atelectasias inmediatas ni alteración del intercambio de gases. En cerdos, los cambios pulmonares morfológicos inducidos por LPS en la imagen tomográfica por computadora y el daño pulmonar histopatológico se desarrollan durante varias horas (Otto CM y otros, *J Appl Physiol* 2008, **104** (5): 1485-1494). El choque séptico y la falla hemodinámica refractaria a la terapia limitan las dosis máximas de infusión de LPS en modelos experimentales. El presente modelo muestra un empeoramiento significativo de PaO₂/ FiO₂ y mecánica respiratoria, así como signos de lesión pulmonar en el análisis post mortem.

20 Influencia en la respuesta inflamatoria

25 **[0066]** En respuesta a la infusión de LPS, se liberan TNF- α e IL-1 β en la circulación sistémica. En la lesión pulmonar temprana, los macrófagos alveolares son la principal fuente de citocinas inflamatorias que desencadenan la respuesta inflamatoria por e.g. incremento de la acumulación de neutrófilos. (Mittal N, Sanyal SN: Cyclooxygenase inhibition enhances the effects of surfactant therapy in endotoxin-induced rat model of ARDS. *Inflammation* 2011, **34** (2): 92-98. Matthay MA, Zemans RL: The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. *Annu Rev Pathol* 2011, **6**: 147-163) En el presente sistema de prueba, se detectaron niveles plasmáticos elevados de TNF- α e IL-6 con un pico dentro de las tres horas posteriores a la inducción de sepsis. La relevancia fisiopatológica está respaldada por datos que demuestran que los niveles circulantes tempranos y altos de IL-6 están asociados con una mayor mortalidad. Curiosamente, la inhalación repetitiva del péptido SEQ ID NO:5 atenuó significativamente la expresión pulmonar de marcadores inflamatorios clave como TNF- α , IL-6 y COX-2. Los niveles plasmáticos de TNF- α e IL-6 fueron menos afectados. En el presente estudio, los genes marcadores inflamatorios se detectaron directamente en el tejido pulmonar. El nivel de expresión no dependía de la localización dentro del pulmón, lo que puede atribuirse al carácter sistémico de la infusión de LPS.

35 **[0067]** La tenascina-c, una glucoproteína de la matriz extracelular, está particularmente involucrada en la fase inflamatoria temprana y es inducida por citocinas inflamatorias, remodelación pulmonar y fibroproliferación. (Chiquet-Ehrismann R, Chiquet M: Tenascins: regulation and putative functions during pathological stress. *The Journal of pathology* 2003, **200** (4): 488-499. Snyder JC, Zemke AC, Stripp BR: Reparative capacity of airway epithelium impacts deposition and remodeling of extracellular matrix. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 2009, **40** (6): 633-642.) La tenascina-c fue significativamente menor en los Grupos (1), lo que sugiere que la inhalación del

péptido SEQ ID NO: 5 mitiga la actividad asociada con la inflamación.

Conclusión

5 **[0068]** En un modelo porcino de lesión pulmonar relacionada con la respuesta inflamatoria sistémica, una inhalación repetitiva de un péptido SEQ ID NO: 5 atenuó significativamente la expresión intrapulmonar de genes marcadores inflamatorios.

[0069] La inhalación de un compuesto de la presente invención representa una nueva opción para atenuar la respuesta inflamatoria. La inhalación del péptido SEQ ID NO: 5 mitiga la expresión intrapulmonar de mediadores inflamatorios clave en la lesión pulmonar inducida por sepsis temprana en cerdos.

Descripción de las figuras:

10 **[0070]**

La figura 1 resume esquemáticamente el protocolo experimental para medir la inflamación pulmonar y los efectos de la administración de un compuesto de la presente invención.

15 Las figuras 2a, 2b muestran la disminución del cociente de presión parcial arterial de oxígeno y FiO_2 (PaO_2 / FiO_2) después de sepsis y ventilación (Fig. 2a), y la disminución de la distensibilidad dinámica del pulmón (C_{dyn}) dentro de las 3 horas posteriores a la administración de un compuesto de SEQ ID: NO 5 (curva 1) y control (CTRL, curva 2) que persistieron sin recuperación después de 3 horas (Fig. 2b).

Las figuras 3a a 3d muestran el aumento de los niveles plasmáticos de IL-6 (Fig. 3a) y TNF-alfa (Fig. 3b), el aumento de los niveles de lactato (Fig. 3c) y la disminución del recuento de plaquetas (Fig. 3d) dentro de las tres horas posteriores a la infusión de LPS.

20 Las figuras 4a a 5d muestran la cuantificación de ARNm intrapulmonar de la expresión de IL-1 β (Fig. 4a), IL-6 (Fig. 4b), TNF- α (Fig. 4c), COX-2 (Fig. 5a), amphiregulina (Fig. 5b), INOS (Fig. 5c) y Tenascina (Fig. 5d) después de la inhalación de un compuesto de SEQ ID NO: 5 (cada curva 1 en todas las figuras) junto a la administración de control (CTRL, cada curva 2 en todas las figuras).

25 Las figuras 6a a 6c muestran resultados de evaluaciones macroscópicas e histológicas post mortem con respecto a lesiones pulmonares (lesión pulmonar global en la figura 6a, valor de hemorragia / congestión en la figura 6b y relación pulmonar húmedo / seco en la figura 6c) de animales tratados con un compuesto de SEQ ID NO: 5 (Grupo 1) versus animales tratados con control (Grupo 2).

Listado de secuencias

[0071]

30 <110> APEPTICO Forschung und Entwicklung GmbH

<120> Atenuación de la inflamación intrapulmonar

<130> A 18761

<150> A 50158 /2014

<151> 2014-03-04

35 <160> 9

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

40 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> compuesto ciclado para uso en inflamación

<220>

<221> DISULFID

45 <222> (1)..(17)

<400> 1

ES 2 791 225 T3

Cys Gly Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr
1 5 10 15

Cys

- 5 <210> 2
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- <220>
<223> compuesto ciclado para uso en inflamación
- 10 <220>
<221> TURN
<222> (1)..(19)
<223> enlace de amida formado entre el grupo amino unido al átomo de carbono épsilon del residuo de lisina N-terminal y el grupo carboxilo de la cadena lateral unido al átomo de carbono gamma del residuo de ácido glutámico C-terminal
- 15 <400> 2

Lys Ser Pro Gly Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro
1 5 10 15

Trp Tyr Glu

- 20 <210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 25 <220>
<223> compuesto ciclado para uso en inflamación
- 30 <220>
<221> TURN
<222> (1)..(17)
<223> enlace amida formado entre el grupo amino unido al átomo de carbono épsilon de la cadena lateral del residuo de lisina N-terminal y el grupo carboxilo del residuo de glicina C-terminal
- <400> 3

Lys Gly Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr
1 5 10 15

Gly

- 35 <210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
 <223> compuesto ciclado para uso en inflamación

5 <220>
 <221> TURN
 <222> (1)..(17)
 <223> enlace amida formado entre el grupo amino unido al carbono delta de la cadena lateral del residuo de ornitina N-terminal y el grupo carboxilo del residuo de glicina C-terminal

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> X = ornitina

<400> 4

Xaa	Gly	Gln	Arg	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Ala	Glu	Ala	Lys	Pro	Trp	Tyr
1				5					10					15	

Gly

15 <210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> compuesto ciclado para uso en inflamación

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> X = ácido 4-aminobutanoico

30 <220>
 <221> TURN
 <222> (1)..(17)
 <223> enlace amida formado entre el grupo amino del residuo de ácido 4-aminobutanoico N-terminal y el grupo carboxilo de cadena lateral unido al carbono beta del residuo de ácido aspártico C-terminal

<400> 5

Xaa	Gly	Gln	Arg	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Ala	Glu	Ala	Lys	Pro	Trp	Tyr
1				5					10					15	

Asp

35 <210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> compuesto ciclado para uso en inflamación

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> X = beta-alanina

ES 2 791 225 T3

<220>

<221> TURN

<222> (1)..(17)

5 <223> enlace amida formado entre el grupo amino del residuo de β -alanina N-terminal (ácido 3-aminopropanoico) y el grupo carboxilo de la cadena lateral unido al carbono gamma del residuo de ácido glutámico C-terminal

<400> 6

Xaa	Gly	Gln	Arg	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Ala	Glu	Ala	Lys	Pro	Trp	Tyr
1				5					10					15	

Glu

10 <210> 7

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> compuesto ciclado para uso en inflamación

<220>

<221> TURN

<222> (1)..(16)

20 <223> enlace amida entre N del grupo amino de la glicina N-terminal y el carbono C1 del grupo carboxilo del ácido 7-amino-heptanoico, y enlace amida entre N del grupo amino del ácido 7-amino-heptanoico y C del grupo carboxilo de la tirosina C-terminal

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

25 <223> X = ácido 7-amino-heptanoico

<400> 7

Xaa	Gly	Gln	Arg	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Ala	Glu	Ala	Lys	Pro	Trp	Tyr
1				5					10					15	

30 <210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> compuesto ciclado para uso en inflamación

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> X = ácido 6-aminohexanoico

40 <220>

<221> TURN

<222> (1)..(17)

45 <223> enlace amida entre N del grupo amino de la glicina N-terminal y C1 del grupo carboxilo del ácido 6-amino-hexanoico, y enlace amida entre N del grupo amino del ácido 6-amino-hexanoico y C del grupo carboxilo de la glicina C-terminal

<400> 8

ES 2 791 225 T3

Xaa Gly Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr
1 5 10 15

Gly

- <210> 9
<211> 17
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial
- <220>
<223> compuesto ciclado para uso en inflamación
- 10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> X = secuencia de aminoácidos / aminoácidos con 1 a 4, en particular 1 a 3 miembros, que comprende aminoácidos naturales o no naturales, en particular seleccionados de la secuencia de aminoácidos / aminoácidos C, KSP, K, ornitina, 4 -aminobutanoico, beta-alanina
- 15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> X = un aminoácido seleccionado de aminoácidos naturales, en particular seleccionado del grupo C, D, G y E
- <400> 9
- 20 Xaa Gly Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr
1 5 10 15

Xaa

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto ciclado de la secuencia de aminoácidos de fórmula I de SEQ ID NO: 5:
 - a. Ciclo (ácido 4-aminobutanoico-GQRETPEGAEAKPWYD),
 - b. donde se forma un enlace amida entre el grupo amino del residuo de ácido 4-aminobutanoico N-terminal y el grupo carboxilo de cadena lateral unido al carbono β del residuo de ácido aspártico C-terminal
para uso en el tratamiento de la inflamación intrapulmonar, sepsis, inflamación sistémica y orgánica por inhalación repetitiva.
2. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 1, en el que el compuesto ciclado de fórmula I está en forma de una sal.
3. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la sal es un hidrocioruro.

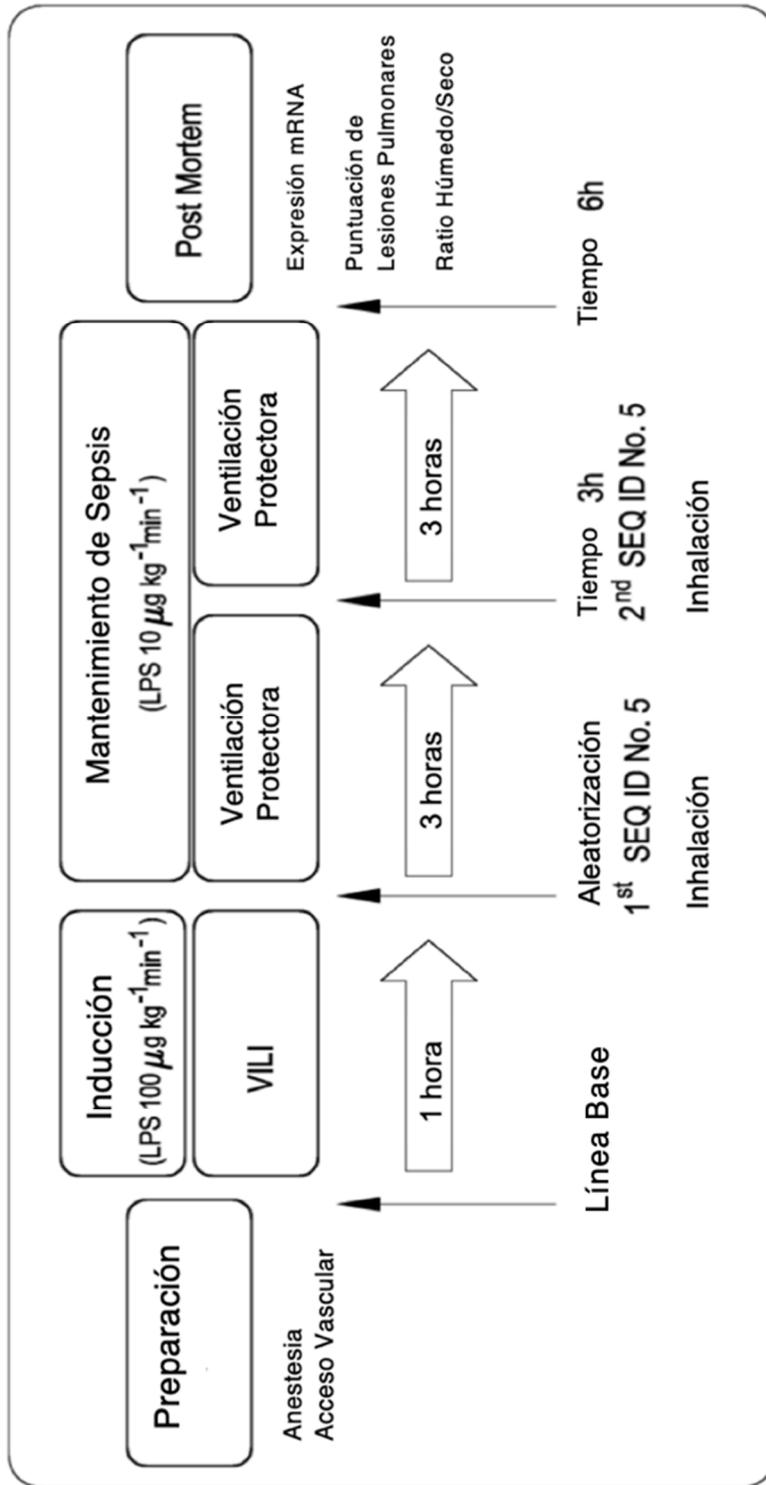


Fig. 1

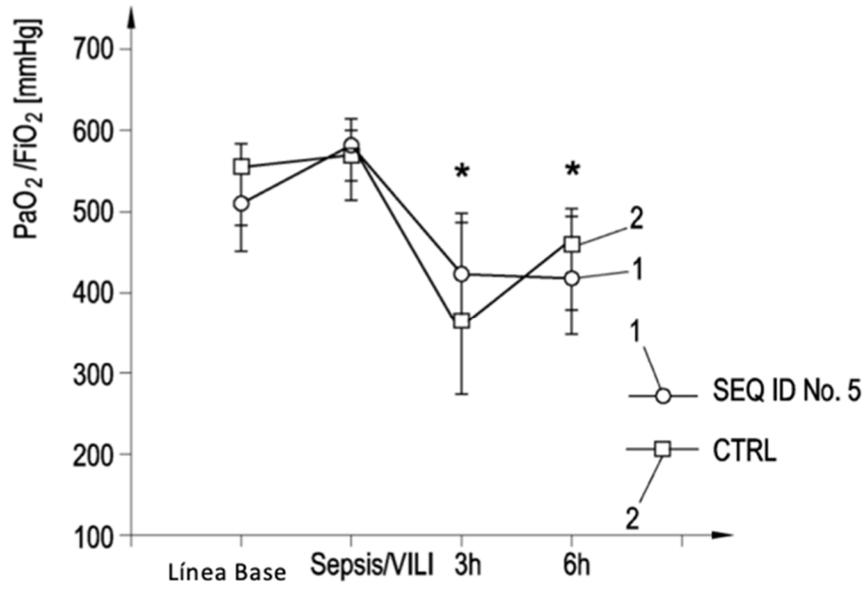


Fig. 2a

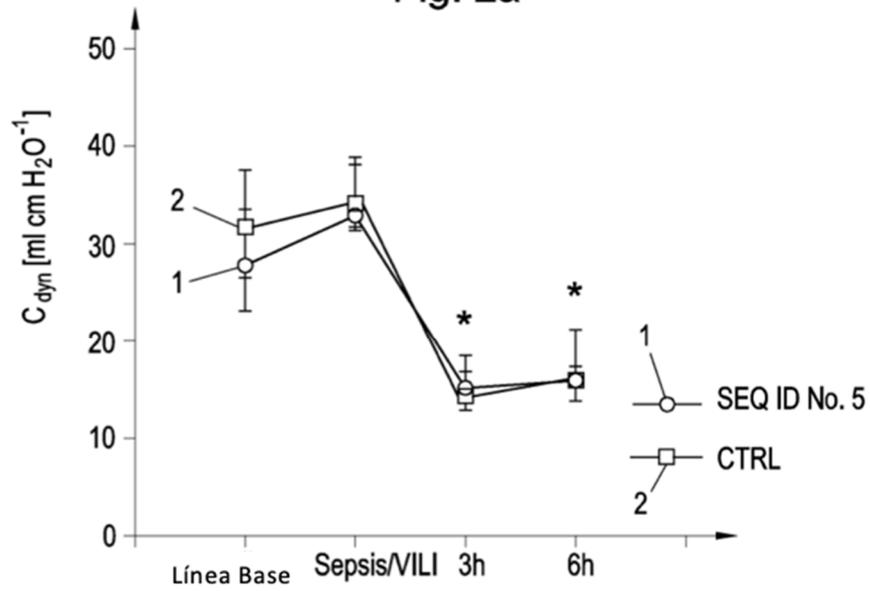


Fig. 2b

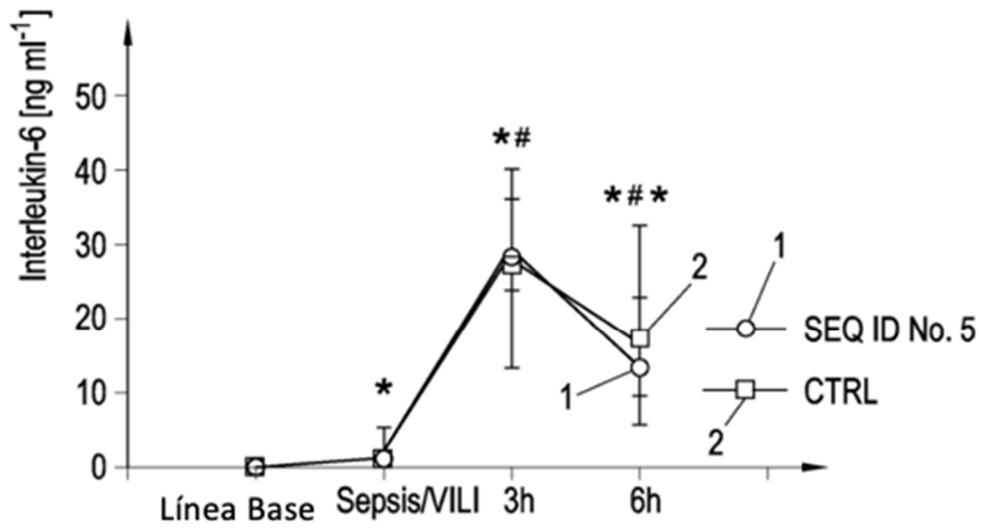


Fig. 3a

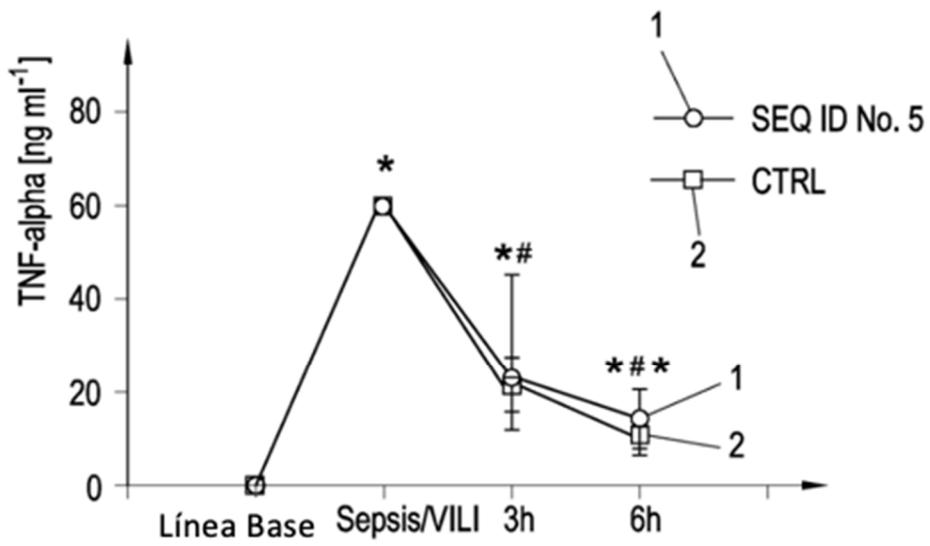


Fig. 3b

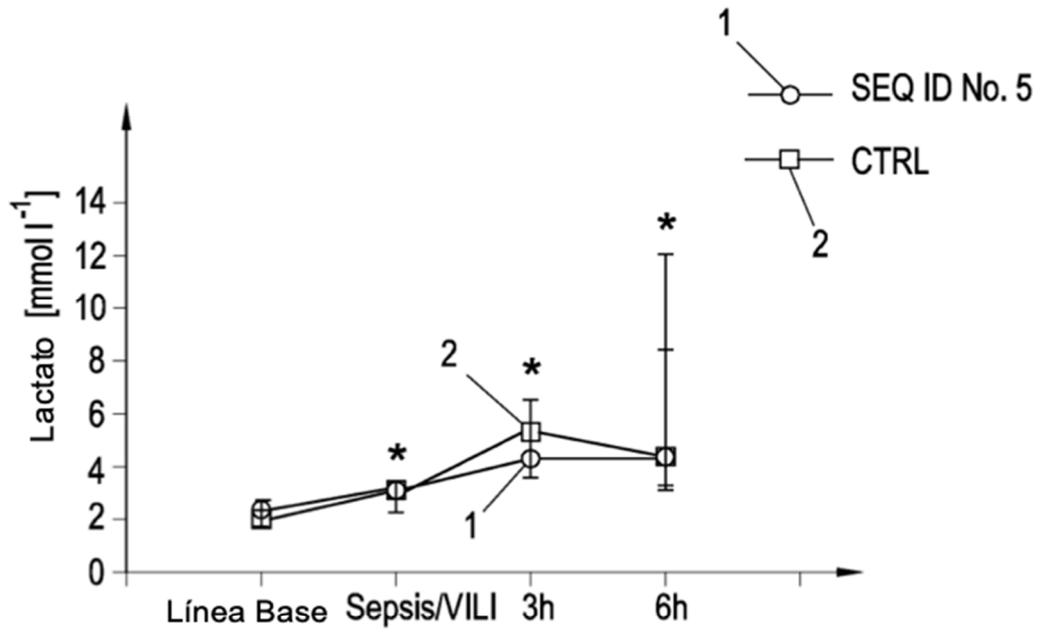


Fig. 3c

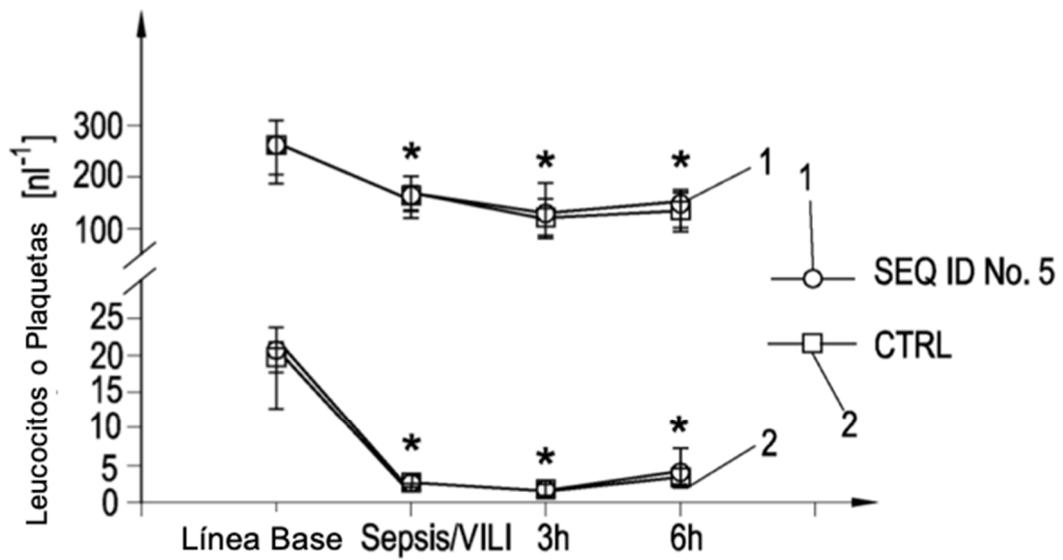
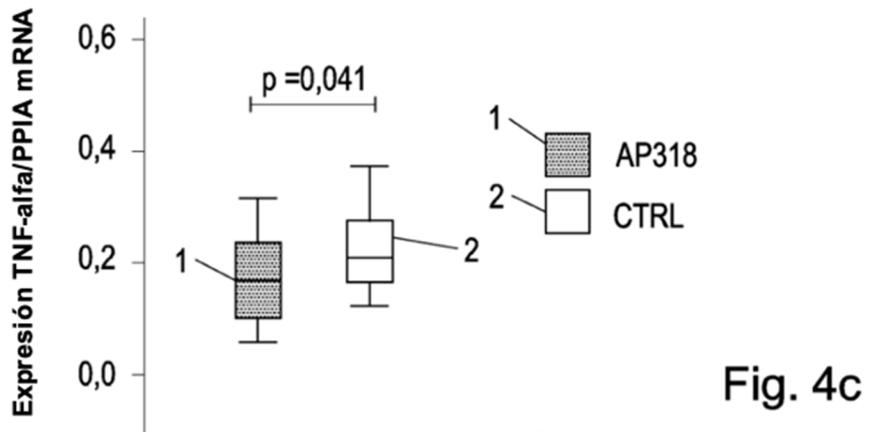
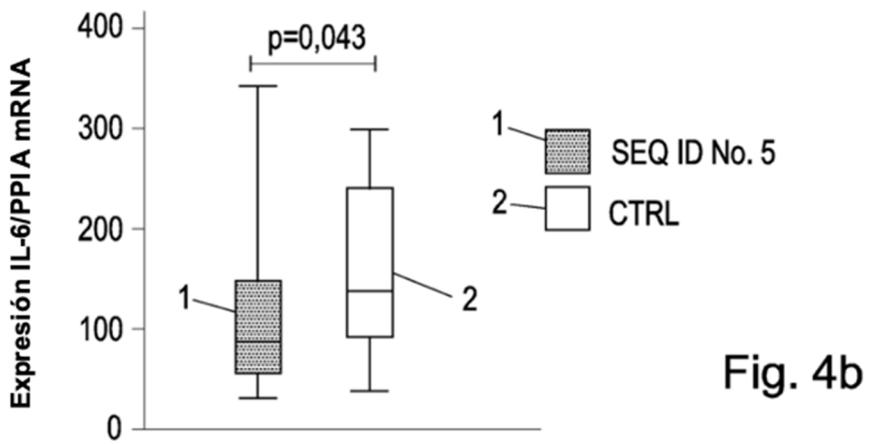
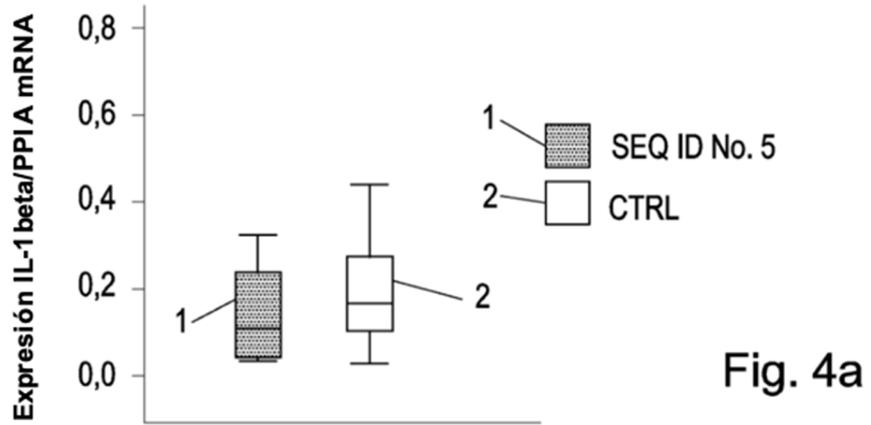


Fig. 3d



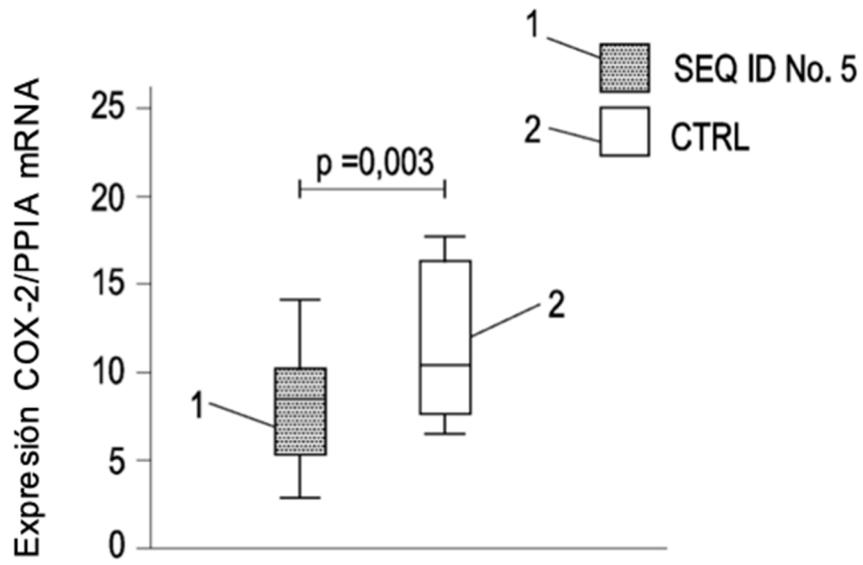


Fig. 5a

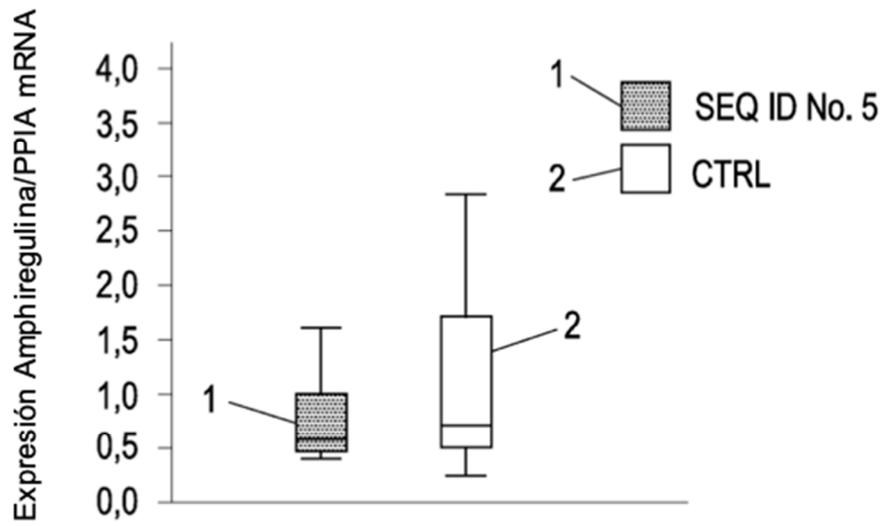


Fig. 5b

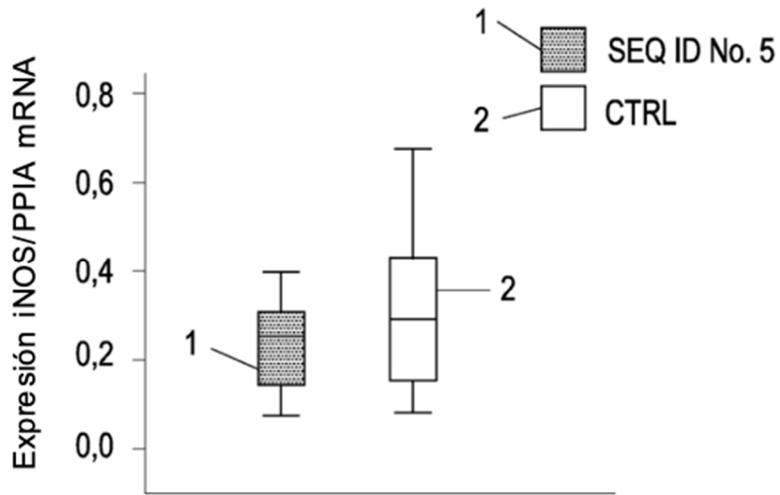


Fig. 5c

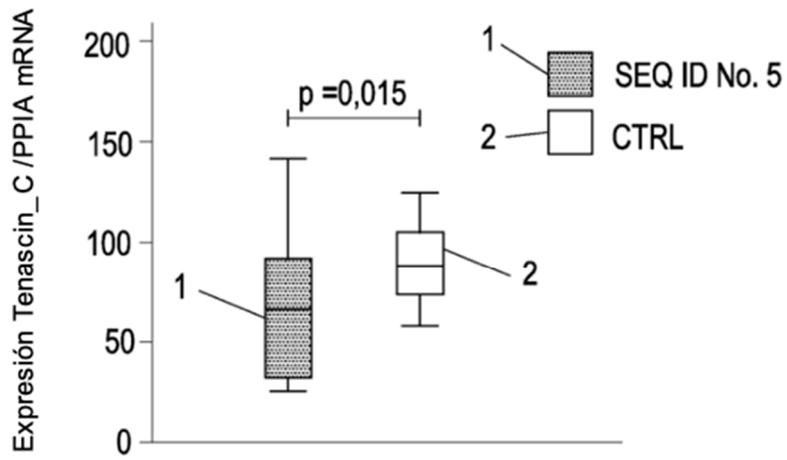


Fig. 5d

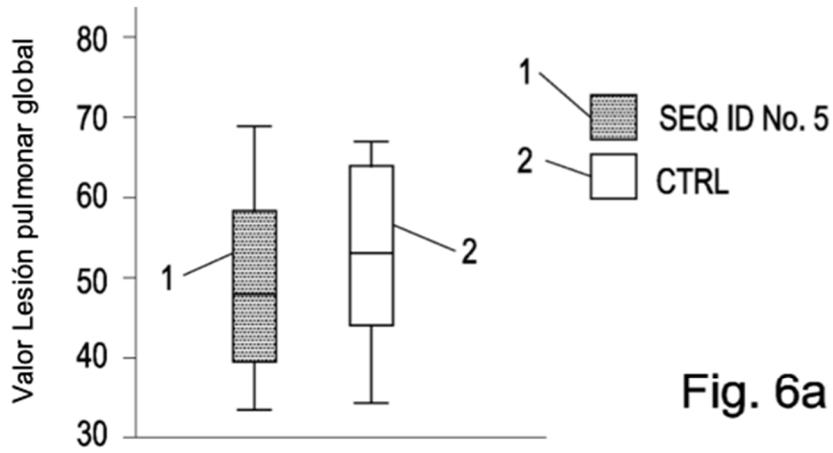


Fig. 6a

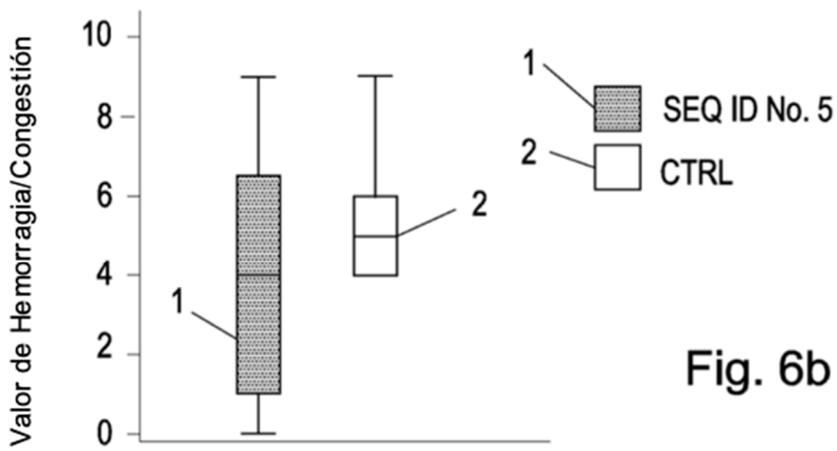


Fig. 6b

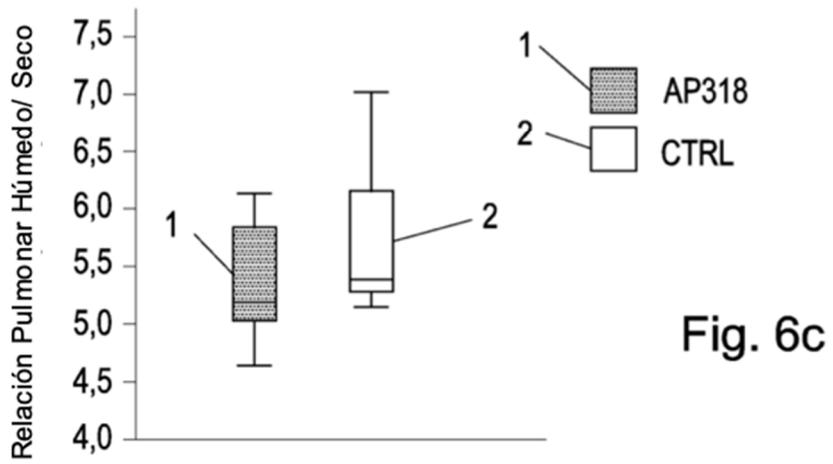


Fig. 6c