

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 225**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

C07K 14/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2008 E 16184094 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3120862**

54 Título: **Péptidos antimicrobianos y composiciones de los mismos**

30 Prioridad:

26.07.2007 US 952059 P

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

11.02.2021

73 Titular/es:

**REVANCE THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
7555 Gateway Boulevard
Newark, CA 94560, US**

72 Inventor/es:

**STONE, HONGRAN FAN y
WAUGH, JACOB M**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 805 225 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

Péptidos antimicrobianos y composiciones de los mismos

La presente solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de patente de Provisional de Estados Unidos N°: 60/952,059, presentada el 26 de Julio de 2007.

5 Campo de la invención

La invención se describe en las reivindicaciones 1-11.

Antecedentes de la invención

10 Los péptidos antimicrobianos (AMP, por sus siglas en inglés) catiónicos pequeños son antibióticos de origen natural del sistema inmune innato. Los AMP se encuentran ampliamente distribuidos en animales y plantas y se encuentran entre los factores de defensa del huésped de más antigüedad. Su espectro de actividad puede incluir bacterias Gram-positivas y Gram-negativas además de hongos y determinados virus. A medida que la resistencia de microbios patógenos a los antibióticos convencionales aumenta, estos antibióticos endógenos son una importante fuente para diseñar nuevas terapias contra una variedad de enfermedades infecciosas, incluyendo terapias para las aplicaciones microbianas crónicas además de para su uso rutinario y profiláctico. Sin embargo, para muchas aplicaciones, tales péptidos deben ser, además de efectivos, suficientemente seguros y estables para permitir el uso a largo plazo y/o rutinario sin que afecte negativamente al área afectada.

15

El documento WO 93/21941 hace referencia al tratamiento del virus herpes.

El documento US 2007/244044 hace referencia a péptidos antimicrobianos.

20 Gordon Y Jerold et al, "A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs", Current Eye Research, IRL press, Oxford, GB, vol. 30, n° 7, 1 de Julio de 2005, páginas 505 - 515, hace referencia a péptidos antimicrobianos y su potencial terapéutico como fármacos anti-infecciosos

El documento WO 95/11038 hace referencia al tratamiento de infección por citomegalovirus.

El documento US 2006/115480 hace referencia al tratamiento de una enfermedad mediante inhibidores péptidos antimicrobianos.

25 Kobayashi Nahoko et al, "Nuclear translocation peptides as antibiotics", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, American Society for Microbiology, US, vol. 50, n° 3, 1 de Marzo de 2006, páginas 1118-1119, hace referencia a péptidos para la translocación nuclear como antibióticos.

Resumen de la invención

30 La presente invención proporciona un péptido antimicrobiano que muestra un amplio rango de actividad antimicrobiana contra bacterias gram positivas y gram negativas, además de hongos, moho y ciertos virus. El péptido de la invención es catiónico, y contiene aminoácidos de carga positiva tales como lisina, arginina, e histadina, junto con otros aminoácidos no cargados tales como la glicina o glutamina. El péptido de la invención es seguro, efectivo, y suficientemente estable para permitir un uso a largo plazo o rutinario.

35 La presente invención además proporciona composiciones antimicrobianas que contienen el péptido antimicrobiano. Las composiciones son estables y por tanto pueden ser formuladas de una variedad de formas que incluyen formas para su uso rutinario. Tales composiciones son especialmente útiles para su aplicación tópica en la piel, cabello, uñas, vagina, uretra, oído, cavidad bucal, pasaje nasal, sistema respiratorio, región oftálmica, diversas regiones de la mucosa, y otras áreas afectadas, para tratar, evitar, o prevenir la recurrencia de una infección microbiana. Las composiciones de la presente invención, al reducir, inhibir o prevenir una infección microbiana, mejoran la condición y/o apariencia de la región tratada, incluso con un uso a largo plazo o rutinario.

40 La presente invención además proporciona kits para su uso en mejorar la condición o apariencia de la piel, uñas, u otra área tratada. Estos kits pueden contener componentes que facilitan dispensar y aplicar las composiciones de la invención, y pueden estar diseñadas la una aplicación conveniente y el almacenamiento a largo plazo de las composiciones.

45 Descripción detallada de la invención

Se utilizaron fragmentos peptídicos VIH-TAT en conjunto con la toxina botulínica para producir composiciones de toxina botulínica más estables, más efectivas y más seguras para propósitos terapéuticos, estéticos, y/o cosméticos. Estas composiciones que contienen toxina botulínica se divulgan en una Solicitud Provisional de Estados Unidos presentada el 29 de diciembre de 2006, titulada "Compositions and Methods of Topical Application And Transdermal Delivery of Botulinum Toxins Stabilized With Polypeptide Fragments Derived From HIV-TAT". Los presentes inventores descubrieron que los fragmentos peptídicos de VIH-TAT, y péptidos relacionados, presentan actividad antimicrobiana, y son útiles como ingredientes activos en composiciones farmacéuticas y cosméticas. Tales péptidos son seguros y efectivos durante su uso a largo plazo o rutinario (por ejemplo, en ausencia de la toxina botulínica).

Se describe en la presente patente un péptido catiónico que comprende una secuencia de VIH-TAT o una secuencia inversa de VIH-TAT en el extremo terminal N- o C-, o tanto en el extremo N-terminal como en el C-terminal. Por ejemplo, el péptido antimicrobiano puede tener una secuencia de VIH-TAT, tal como Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg (SEQ ID NO:1), o una secuencia inversa de VIH-TAT, tal como Arg-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Lys-Lys-Arg (SEQ ID NO:2), en el extremo N- o C-terminal o tanto en el extremo N-terminal como en el C-terminal.

El péptido catiónico comprende una parte N-terminal que es una secuencia de VIH-TAT o una secuencia inversa de VIH-TAT, una parte C-terminal que es una secuencia de VIH-TAT o una secuencia inversa de VIH-TAT, y uno o más residuos catiónicos (por ejemplo, Lys or Arg) entre la parte N-terminal y la parte C-terminal. Por ejemplo, el péptido puede tener de 5 a 20 residuos catiónicos tales como Lys entre la parte N-terminal y la parte C-terminal, tal como aproximadamente 12, aproximadamente 15, o aproximadamente 17 residuos catiónicos.

La invención consiste en un péptido catiónico con la siguiente secuencia: Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Gly-(Lys)_n-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg (SEQ ID NO:3), donde n es de 10 a 20. También se describe en el presente documento un péptido catiónico con la secuencia: Arg-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Lys-Lys-Arg-Gly-(Lys)_n-Gly-Arg-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Lys-Lys-Arg (SEQ ID NO:4), donde n es de aproximadamente 5 a aproximadamente 20, tal como de aproximadamente 10 a aproximadamente 20.

La parte N-terminal del péptido puede ser una secuencia de VIH-TAT y la parte C-terminal del péptido puede ser una secuencia VIH-TAT. La parte N-terminal puede ser una secuencia inversa de VIH-TAT y la parte C-terminal puede ser una secuencia inversa de VIH-TAT. Por ejemplo, el péptido antimicrobiano puede tener la siguiente secuencia de aminoácidos: Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Gly-(Lys)₁₅-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg (SEQ ID NO:5).

El péptido contiene una secuencia de aminoácidos de origen natural, tal como una secuencia de VIH-TAT, pero puede contener de forma alternativa mejoras de la secuencia de origen natural para mejorar su potencia. Los péptidos antimicrobianos con potencia mejorada. Los péptidos antimicrobianos con potencia mejorada pueden ser identificados utilizando un ensayo según se describe o se ejemplifica en la presente patente. El péptido de la invención es fácilmente biodegradable.

Derivados antimicrobianos de la secuencia VIH-TAT y la secuencia inversa VIH-TAT descritas en la presente patente, se caracterizan porque presentan un contenido particularmente alto en residuos Arg y Lys. Por ejemplo, el péptido de la invención puede contener al menos aproximadamente un 50%, en conjunto, de los residuos de aminoácidos Arg y Lys, pero contienen al menos aproximadamente un 75%, o al menos aproximadamente un 80%, de residuos Arg y Lys. Tales derivados pueden tener la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3 o 4, con de 1 a 5 sustituciones, inserciones, o deleciones de aminoácidos (en conjunto), incluyendo 1, 2, 3, o 4 sustituciones, inserciones, o deleciones de aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 3 o 4. Tales sustituciones, inserciones, o deleciones, están localizadas dentro de la secuencia de VIH-TAT o secuencia inversa de VIH-TAT.

Los péptidos antimicrobianos descritos en la presente patente tienen una longitud de desde aproximadamente 15 aminoácidos a aproximadamente 100 aminoácidos. El péptido catiónico es de aproximadamente 25 a aproximadamente 50, o de aproximadamente 25 a aproximadamente 40 aminoácidos de longitud. El péptido antimicrobiano de la invención según se define en la reivindicación 11 puede ser de aproximadamente 35 aminoácidos de longitud.

Los péptidos descritos en la presente patente pueden ser efectivos para inhibir, destruir, y/o lisar diversos organismos microbianos, y pueden tener un amplio espectro antimicrobiano. Ejemplos de bacterias para las que la invención puede ser un bacteriostático o bactericida, incluyen bacterias tanto gram-negativas como gram-positivas tales como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (grupo A), *Streptococcus spp.* (grupo viridans), *Streptococcus agalactiae* (grupo B), *Streptococcus bovis*, *Streptococcus* (especie anaeróbica), *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus spp.*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Branhamella catarrhalis*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium tetani*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Actinobacillus actinomycetumcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteriodes forcythus*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, y *Eubacterium nodatum*.

Los péptidos descritos en la presente patente pueden ser útiles para inhibir tales bacterias para mejorar una infección o infecciones microbianas o reducir la probabilidad de una infección o infecciones microbianas, incluyendo: bacteriemia, neumonía, meningitis, osteomielitis, endocarditis, caries dental, enfermedad periodontal, sinusitis, rinitis, conjuntivitis, infecciones del tracto urinario, tétano, gangrena, colitis, gastroenteritis aguda, impétigo, acné, acné rosácea, infecciones de heridas, infecciones de quemaduras, fascitis, bronquitis, y una variedad de abscesos, infecciones nosocomiales, e infecciones oportunistas.

Los péptidos descritos en la presente patente pueden también ser efectivos para inhibir el crecimiento y supervivencia de organismos fúngicos tales como dermatofitos (por ejemplo, *Microsporium spp.*, tales como *Microsporium canis*, *Microsporium audouinii*, y *Microsporium gypseum*; y *Trichophyton spp.*, tales como *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. Trichophyton*, *T. schoenleinii*, y *T. tonsurans*), *Acremonium spp.*, *Fusarium oxysporum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Onychocola canadensis*, *Scytalidium dimidiatum*; yeasts (por ejemplo, *Candida albicans*, *C. Tropicalis*, u otras especies de *Candida*, y *Saccharomyces cerevisiae*), *Torulopsis glabrata*, *Epidermophyton floccosum*, *Malassezia furfur*, *Pityrosporon orbiculare* o *ovale*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* y otras especies de *Aspergillus spp.*, *Zygomycetes* (por ejemplo, *Rhizopus* y *Mucor*), *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, y *Sporothrix schenckii*.

Los péptidos descritos en la presente patente pueden ser útiles para inhibir organismos fúngicos para tratar o prevenir infecciones tales como: Aspergilosis, Blastomycosis, Candidiasis, Coccidioidomycosis, Criptococosis, Histoplasmosis, paracoccidioidomycosis, esporotricosis, Zigomicosis. En determinadas realizaciones de la invención, el péptido antimicrobiano es efectivo para tratar o prevenir el pie de atleta, Tiña versicolor, y onicomycosis. Otras infecciones fúngicas para las que el péptido antimicrobiano de la invención es efectivo, incluyen: Tinea barbae, Lobomycosis, Micetoma, Piedra, Pitiriasis versicolor, Tinea capitis, Tinea corporis, Tinea cruris, Tinea favosa, Tinea nigra, Otomicosis, Feohifomicosis, y Rinosporidiosis.

Los péptidos descritos en la presente patente pueden además ser efectivos contra determinados virus, tales como el VIH, virus del herpes simple, citomegalovirus, y virus del papiloma humano. Por tanto, los péptidos antimicrobianos descritos en la presente patente son también efectivos para evitar y tratar infecciones tales como herpes labial, herpes genital, y verrugas, y efectivos para prevenir una infección por VIH.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica o cosmética que contiene el péptido antimicrobiano de la invención, y un soporte y/o diluyente farmacéutica o cosméticamente aceptable. En general, las composiciones de la invención no contienen toxina botulínica, según se divulga en la solicitud provisional de Estados Unidos presentada el 29 de diciembre, 2006, con título "Compositions and Methods of Topical Application And Transdermal Delivery of Botulinum Toxins Stabilized With Polypeptide Fragments Derived From HIV-TAT".

Las composiciones de la invención pueden comprender, consistir en, o consistir esencialmente en, el péptido antimicrobiano de la invención en una cantidad efectiva para la actividad antimicrobiana, en combinación con un soporte y/o diluyente. A este respecto, la expresión "consiste esencialmente en" significa que la composición contiene únicamente el péptido antimicrobiano con un soporte o soportes y/o diluyente o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables, y puede contener de forma opcional un agente o agentes antimicrobianos adicionales, tal como un antibiótico, o un agente antiinflamatorio (por ejemplo, un AINE). Por ejemplo, cuando se formula para su administración por vía tópica, la composición de la invención puede contener de forma opcional peróxido de benzoilo, clindamicina, eritromicina, tetraciclina, bacitracina, neomicina, mupirocina, polimixina B, miconazol, y/o clotrimazol. En determinadas realizaciones, el soporte y/o diluyente es un soporte o diluyente acuoso, tal como una solución tampón de fosfatos.

La composición farmacéutica o cosmética de la invención puede ser formulada para su administración por vía tópica, que puede ser una alternativa bien recibida a la terapia sistémica para tratar o prevenir muchas infecciones microbianas. En determinadas realizaciones, la terapia por vía tópica con la composición de la invención se administra junto con una terapia sistémica u otra terapia tópica para proporcionar ya sea resultados aditivos o sinérgicos. Por ejemplo, el péptido antimicrobiano de la invención puede actuar de forma sinérgica con uno o más de peróxido de benzoilo, clindamicina, eritromicina, tetraciclina, bacitracina, neomicina, mupirocina, polimixina B, miconazol, clotrimazol y/o agentes antimicrobianos equivalentes.

El tratamiento con la composición de la invención puede no solamente limpiar diversas infecciones, sino que también es efectiva para prevenir la ocurrencia de tales infecciones en un primer momento, y para prevenir la recurrencia de tales infecciones. En este último aspecto, la presente composición se administra a la región afectada después del tratamiento con terapia tópica o sistémica. Para prevenir la recurrencia de una infección tratada de forma efectiva, o para prevenir la ocurrencia de una infección en un primer momento en una región susceptible, la composición puede ser administrada de forma rutinaria (por ejemplo, diariamente) durante un largo periodo de tiempo, incluyendo días, semanas, o incluso años.

5 Cuando se formula para su administración por vía tópica, la composición de la presente invención puede contener ingredientes habituales en las composiciones tópicas farmacéuticas o cosméticas, tales como un soporte, vehículo o medio. Específicamente el soporte, vehículo, o medio es compatible con los tejidos a los que se aplica, tales como piel, cabello, uñas, vagina, uretra, oído, cavidad bucal, pasaje nasal, sistema respiratorio, región oftálmica, y/o mucosa. Las composiciones y componentes de la invención son adecuadas para entrar en contacto con tejidos infectados o para su uso en pacientes en general sin toxicidad indebida, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica, y similares. Según sea apropiado, las composiciones de la invención pueden comprender cualquier ingrediente utilizado convencionalmente en las áreas bajo consideración.

10 En cuanto a su forma, las composiciones de la invención pueden incluir soluciones, emulsiones (incluyendo microemulsiones), suspensiones, cremas, lociones, geles, polvos, u otras composiciones habituales sólidas o líquidas utilizadas para su aplicación en la piel y otros tejidos en los que las composiciones pueden ser utilizadas. Tales composiciones pueden contener: antimicrobianos adicionales, agentes humectantes e hidratantes, agentes de penetración, conservantes, emulsionantes, aceites naturales o sintéticos, disolventes, tensioactivos, detergentes, agentes gelificantes, emolientes, antioxidantes, fragancias, sustancias de relleno, espesantes, ceras, absorbentes de olores, materias colorantes, agentes colorantes, polvos, agentes de control de viscosidad y agua, y de forma
15 opcional incluyendo anestésicos, agentes anti picazón, extractos botánicos, agentes acondicionadores, agentes de oscurecimiento o iluminación, brillo, humectantes, mica, minerales, polifenoles, siliconas o derivados de la misma, protectores solares, vitaminas, y fitomedicinales. En determinadas realizaciones, la composición de la invención se formula con los ingredientes anteriores de manera que sean estables durante un largo periodo de tiempo, ya que
20 puede ser beneficioso cuando se prevean tratamientos continuos o a largo plazo.

25 Las composiciones de la invención pueden ser en forma de composiciones de liberación controlada o sostenida, en donde el péptido antimicrobiano junto con agentes activos adicionales están encapsulados o de otro modo contenidos dentro de un material, de tal manera que se liberan en la piel o en el área afectada de forma controlada en el tiempo. Las composiciones de la invención pueden estar contenidas dentro o en matrices, liposomas, vesículas, microcápsulas, microesferas o similares, o dentro o en un material de partículas sólidas.

30 La administración de la composición de la invención puede ser a cualquier región afectada o susceptible, por ejemplo, a las piernas, hombros, espalda (incluyendo la zona inferior de la espalda), axilas, palmas, pies, cuello, ingle, dorso de las manos o pies, codos, antebrazos, rodillas, muslos, nalgas, torso, pelvis, o cualquier otra parte del cuerpo para la cual el tratamiento o prevención de la infección se desee. Tal tratamiento se contempla también para el tratamiento y/o limpieza de heridas, tales como cortes, raspaduras, y quemaduras en la piel, para tratar o prevenir infecciones en el área herida.

35 Las composiciones de la invención son adecuadas para su uso en entornos fisiológicos con un rango de pH de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,3, y por tanto, las composiciones pueden estar formuladas a un pH similar o equivalente. Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden almacenarse ya sea a temperatura ambiente como bajo condiciones refrigeradas.

40 La composición de la invención contiene una cantidad de péptidos antimicrobianos efectiva para una acción antimicrobiana. En general, la composición contiene de aproximadamente un 0,01% (peso/volumen) a aproximadamente un 20% de péptido antimicrobiano. En determinadas realizaciones, la composición contiene de aproximadamente un 0,5% a aproximadamente un 10% de péptido antimicrobiano, tal como aproximadamente 0,5%, aproximadamente un 1%, aproximadamente un 5%, o aproximadamente un 10% de péptido antimicrobiano.

45 La composición farmacéutica de la invención puede ser un limpiador o humectante. Los limpiadores y humectantes pueden ser particularmente útiles para acondicionar la piel mientras se trata y/o se evita una infección microbiana, tal como acné incluyendo propionibacterium acne. Este aspecto es además efectivo para prevenir la recurrencia del acné después de que el acné se haya disipado de forma efectiva. En este aspecto, el limpiador o humectante puede ser aplicado al área afectada de forma rutinaria, por ejemplo, aproximadamente a diario, y de forma continua y rutinaria. Por ejemplo, el tratamiento puede continuar durante días, semanas, meses, o incluso años.

50 La composición descrita en la presente patente es una solución tópica efectiva contra el pie de atleta (Tinea pedis), y/o onicomicosis. En este aspecto, la composición puede ser una solución acuosa para empapar o pintar la región afectada. La composición descrita en la presente patente es también efectiva para evitar la recurrencia de la condición, mediante tratamiento diario continuo. Además, cuando se utiliza para el tratamiento de la onicomicosis, la composición puede ser utilizada junto con la terapia sistémica, tal como, por ejemplo, Lamisil®, para proporcionar resultados más efectivos y para mejorar la condición y/o apariencia de las uñas.

55 La composición de la invención puede ser formulada como un enjuague bucal, pulverizador bucal o gel bucal. En este aspecto, el enjuague bucal o el pulverizador bucal es efectivo para la prevención de la caries dental, para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad periodontal, para el tratamiento de la irritación de garganta, o para tratar o prevenir la halitosis que pudiera ser causada por la presencia o actividad de microbios. Cuando se formula como un gel bucal, la composición de la invención es efectiva para el tratamiento y la prevención de úlceras

alrededor de la boca, tales como herpes labial y aftas. Cuando se formula como un enjuague bucal, o pulverizador bucal, o gel bucal, la composición generalmente contiene de aproximadamente 0,01% a aproximadamente un 10% del péptido antimicrobiano, tal como aproximadamente un 1%, aproximadamente un 2%, aproximadamente un 3%, o aproximadamente un 5% de péptido antimicrobiano.

- 5 La invención puede ser formulada como una crema o loción. Tales formulaciones son particularmente adecuadas para el tratamiento y/o prevención de un brote o infección por el virus del herpes simple. Por tanto, en determinadas realizaciones, la invención es adecuada para el tratamiento del herpes genital, herpes labial o varicela.

La composición de la invención puede además ser formulada como un pulverizador nasal efectivo contra la rinitis, o formulado como gotas para los ojos efectivas contra la conjuntivitis.

- 10 En otro aspecto, la invención proporciona un medio para su uso en un método de tratamiento o prevención de una infección microbiana. El método comprende la administración de la composición farmacéutica o cosmética de la invención que contiene el péptido antimicrobiano, a un paciente que sufre o se sospecha que sufre una infección microbiana. En determinadas realizaciones, la composición se administra al paciente después del tratamiento de la infección, ya sea con la composición de la invención o con una terapia alternativa, para prevenir una recurrencia adicional. El paciente puede ser cualquier paciente veterinario o humano.

- 15 Las composiciones de la invención pueden ser útiles para el tratamiento y/o prevención de bacterias locales y sistémicas, fúngicas, e infección vírica en la piel, cabello, uñas, vagina, uretra, oído, cavidad bucal, sistema respiratorio, región oftálmica, regiones nasales y diversas regiones de la mucosa por vía tópica, o una infección sistémica por diversas vías, tales como por vía intravenosa o subdérmica. Tales enfermedades pueden ser, por ejemplo, acné incluyendo propionicbacterium acne, onicomycosis, pie de atleta, herpes genital, caries, enfermedad periodontal, rinitis, y conjuntivitis. La infección puede ser una infección de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, y/o un virus de herpes simple.

- 20 Para tratar, prevenir, o prevenir la recurrencia de una infección microbiana, el péptido antimicrobiano puede ser administrado al menos una vez al día durante al menos aproximadamente una semana. De forma alternativa, la composición se administra al menos dos veces al día durante al menos dos días. En determinadas realizaciones, la composición se administra aproximadamente a diario, al menos a diario, dos veces en semana, semanalmente, o durante aproximadamente un mes. En determinadas realizaciones, la composición de la invención se administra durante varios meses. En determinadas realizaciones, la composición de la invención se administra durante varios meses, tal como al menos dos meses, seis meses, o aproximadamente un año o más. La invención es además adecuada para su uso a largo plazo, que puede ser particularmente beneficioso para evitar una infección recurrente, o para prevenir una infección o condiciones en pacientes en riesgo o susceptibles, incluyendo pacientes inmunocomprometidos. Tal uso a largo plazo implica un tratamiento durante al menos dos años, tres años, cuatro años, o incluso cinco años o más.

- 25 En otro aspecto, la composición de la invención es un kit, que contiene el péptido o composiciones de la invención envasados para facilitar la dispensación y/o aplicación de la composición en las regiones afectadas o susceptibles. El envase o dispensador puede incluir una botella, tubo, botella pulverizadora, u otro dispensador. En determinadas realizaciones de la invención, la composición está envasada en una forma concentrada, y diluida hasta una concentración deseada para el uso por parte del usuario final. En este u otro aspecto, la composición está formulada y envasada de manera adecuada para el almacenamiento a largo plazo para mantener la eficacia de la composición.

- 40 El kit puede incluir además componentes adicionales para facilitar la aplicación de la composición al área afectada, tal como, por ejemplo, un cepillo, esponja, hisopos, o similares.

Ejemplos

Ejemplo 1. Efecto del péptido sobre condiciones caracterizadas por una infección microbiana

- 45 Los siguientes experimentos se diseñaron para someter a prueba los efectos de una formulación diluyente; sin embargo, sorprendentemente, se observó que el péptido catiónico es en sí mismo un potente antimicrobiano. Se descubrió que el péptido de la invención no solamente era seguro para su uso a largo plazo, sino efectivo para tratar y prevenir, incluyendo prevenir la recurrencia de, diversas condiciones asociadas con una infección microbiana. A la luz de estos resultados, el efecto del péptido sobre el crecimiento microbiano se sometió a prueba en el Ejemplo 2.

Ejemplo 1.1

- 50 Un varón de 15 años con una historial de acné durante dos años, utilizó la formulación peptídica (SEQ ID NO:5) al 5% por vía tópica dos veces al día durante 4 semanas. La formulación en crema se componía de los excipientes alcohol cetílico, alcohol isopropílico, miristato isopropílico, alcohol estearílico, butilhidroxitoluol, Estearil éter de

polioxietileno, disodio de edetato, y agua purificada. El acné desapareció en dos semanas con el uso de la formulación tópica. Con el uso continuado de la formulación durante dos años, no se observaron brotes o eventos adversos.

Ejemplo 1.2

5 Una mujer de 36 años con Tinea Pedis (pie de atleta) tal como se mostró por la erupción irritante y con picor y la supuración entre los dedos del pie, sumergió los pies en una formulación del péptido (SEQ ID NO:5) al 5% durante 10 minutos antes de dormir y se aplicó una formulación del péptido al 1% por vía tópica dos veces al día en el área infectada y en el resto de los pies. La formulación en crema estaba compuesta de excipientes de alcohol cetílico, miristato isopropílico, alcohol estearílico, butilhidroxitoluol, estearil éter de polioxietileno, disodio de edetato, y agua purificada. En la semana 1, la picazón se redujo y la supuración se detuvo. En la semana 4, las placas casposas de la piel desaparecieron y no había evidencia de piel anormal en sus pies. Continuó con el uso de la formulación peptídica al 0,05% durante 5 años sin brotes o evento adversos.

Ejemplo 1.3

15 Un varón de 78 años de edad fue diagnosticado con onicomycosis después de la confirmación del laboratorio de una invasión fúngica en base al examen en microscopio y cultivo de restos o trozos de uñas. Comenzó a pintarse las uñas de los dedos y alrededores del lecho de las uñas con una formulación del péptido (SEQ ID NO:5) al 5% dos veces al día. La formulación en crema estaba compuesta de los excipientes alcohol cetílico, miristato isopropílico, alcohol estearílico, butilhidroxitoluol, estearil éter de polioxietileno, disodio de edetato, y agua purificada. 12 semanas más tarde, todas las uñas de los dedos que crecieron presentaban una textura y color normales. Continuó utilizando la formulación del péptido durante 2 años y todas sus uñas se mantuvieron libres de infección fúngica.

Ejemplo 1.4

25 Un varón de 65 años de edad fue diagnosticado con onicomycosis después de confirmación del laboratorio de invasión fúngica en base a un examen con microscopio y un cultivo de restos o trozos de uñas. Comenzó con una terapia bucal durante 1 mes. Después, comenzó a pintar las uñas de sus dedos y alrededores del lecho de la uña con una formulación del péptido (SEQ ID NO:5) al 10% a diario. La formulación en crema estaba compuesta de los excipientes alcohol cetílico, miristato isopropílico, alcohol estearílico, butilhidroxitoluol, estearil éter de polioxietileno, disodio de edetato, y agua purificada. 12 semanas más tarde, todas las uñas de los dedos que crecieron presentaban una textura y color normales. Continuó utilizando la formulación del péptido durante 2 años y todas sus uñas se mantuvieron libres de infección fúngica, y no hubo recaídas de infecciones fúngicas adicionales en sus uñas del pie.

Ejemplo 1.5

35 Un niño de 10 años de edad con un historial de caries dental de dos años utilizó el enjuague bucal con el péptido (SEQ ID NO:5) durante dos semanas. La formulación consistía en suero salino normal y el péptido al 1-5%. Sus síntomas se aliviaron de forma significativa. Continuó utilizando el enjuague bucal del péptido durante dos años no observándose ninguna cavidad en los dientes.

Ejemplo 1.6

Una mujer de 36 años con un brote de herpes labial en su boca aplicó una formulación del péptido (SEQ ID NO: 5) al 1% tres veces al día. La formulación en hidrogel estaba compuesta de un poloxámero al 30%. Todas los herpes labiales desaparecieron en dos días.

Ejemplo 1.7

Una mujer de 24 años con herpes genital se aplicó el péptido (SEQ ID NO:5) al 1% dos veces al día durante una semana en el área afectada. La formulación en crema estaba compuesta de los excipientes alcohol cetílico, miristato isopropílico, alcohol estearílico, butilhidroxitoluol, estearil éter de polioxietileno, disodio de edetato, y agua purificada. Todos los síntomas desaparecieron al final del periodo de tratamiento.

Ejemplo 1.8

45 Una joven de 18 años de edad con un historial de rinitis durante tres años utilizó un pulverizador nasal que contenía un péptido de la invención (SEQ ID NO:5) tres veces al día durante una semana. La formulación consistía en un suero salino normal y el péptido al 1-5%. Sintió alivio inmediato de los síntomas tales como picor, estornudos, y congestión nasal.

Ejemplo 1.9

Un niño de 8 años de edad con conjuntivitis, se aplicó la formulación del péptido (SEQ ID NO:5) que consistía en un suero salino normal y el péptido al 1-5%, y dos días más tarde los síntomas desaparecieron.

Ejemplo 2. Actividad antimicrobiana *in vitro*

- 5 La actividad antimicrobiana se sometió a prueba utilizando un ejemplo de péptido de la invención en un panel de bacterias gram-positivas y gram-negativas, y hongos. El ejemplo de secuencia peptídica fue Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Gly-(Lys)₁₅-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg (SEQ ID NO:5) y había sido formulada en Poloxámero al 15% y suero salino al 0,9%. Las concentraciones del péptido eran 3,3 mg/ml, 11 mg/ml, y 11 ng/ml, respectivamente. Las actividades antimicrobianas se muestran en las Tablas 1-3. El péptido demostró una fuerte actividad antimicrobiana en una forma dependiente de la dosis. Particularmente, *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria gram-negativa que destaca por su resistencia a los antibióticos, puede ser inhibida con el péptido de la invención al 0,33% (Tabla 1).

Tabla 1. Actividad antimicrobiana a 3,3 mg/ml (péptido al 0,33%)

Organismo	Conteo inicial	14 días (CFU/ml)	28 días (CFU/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	$7,4 \times 10^5$	125 Reducción logarítmica de 3,8	<10 No aumento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	$1,1 \times 10^6$	<100 > reducción logarítmica de 4,0	<100 No aumento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$5,5 \times 10^5$	<10 > reducción logarítmica de 4,7	<10 No aumento
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	$1,0 \times 10^5$	<10 No aumento	<10 No aumento
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	$3,0 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$ No aumento	$3,0 \times 10^5$ No aumento

15

Tabla 2. Actividad antimicrobiana a 11 mg/ml (péptido al 0,0011%)

Organismo	Conteo inicial	14 días (CFU/ml)	28 días (CFU/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	$7,0 \times 10^5$	<10 >Reducción logarítmica de 4,8	<10 No aumento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	$1,2 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$ > aumento logarítmico de 0,6	$1,7 \times 10^7$ aumento logarítmico de 0,6
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$6,9 \times 10^5$	$1,7 \times 10^3$ > reducción logarítmica de 2,6	<10 No aumento
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	$1,6 \times 10^5$	$2,1 \times 10^3$ No aumento	$1,0 \times 10^3$ No aumento
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	$4,6 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$ No aumento	$2,2 \times 10^5$ No aumento

Tabla 3. Actividad antimicrobiana a 11 ng/ml (péptido al 0,000011%)

Organismo	Conteo inicial	14 días (CFU/ml)	28 días (CFU/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	$7,0 \times 10^5$	<10 >Reducción logarítmica de 4,8	<10 No aumento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	$1,2 \times 10^6$	$3,9 \times 10^6$ > aumento logarítmico de 0,5	$5,6 \times 10^6$ No aumento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$6,9 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4$ reducción logarítmica de 1,2	860 No aumento

ES 2 805 225 T3

<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1,6 x 10 ⁵	3,8 x 10 ⁴ No aumento	3,1 x 10 ⁴ No aumento
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	4,6 x 10 ⁵	2,9 x 10 ⁵ No aumento	2,6 x 10 ⁵ No aumento

Listado de secuencias

<110> Revance Therapeutics, Inc.

5 <120> Péptido antimicrobiano, composiciones, y métodos de uso

<130> REVA-001/01WO

<150> US 60/952,059

<151> 2007-07-26

<160> 5

10 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Virus de la inmunodeficiencia humana

15 <400> 1

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido antimicrobiano VIH TAT

<400> 2

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
1 5

25 <210> 3

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido antimicrobiano VIH TAT

5 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(30)

<223> Lys es opcional

<400> 3

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Gly Arg
20 25 30

10

Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
35 40

<210> 4

<211> 40

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido antimicrobiano VIH TAT

<220>

<221> MISC_FEATURE

20 <222> (16)..(30)

<223> Lys es opcional

<400> 4

ES 2 805 225 T3

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Gly Arg
20 25 30

Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
35 40

<210> 5

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido antimicrobiano VIH TAT

<900> 5

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln
20 25 30

Arg Arg Arg
35

10

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica o cosmética que comprende un péptido, en donde dicho péptido consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3 correspondiente a Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Gly-(Lys)_n-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg, donde n es de 10 a 20; y
 - 5 un soporte y/o diluyente farmacéutica o cosméticamente aceptable.
 2. Composición farmacéutica o cosmética según la reivindicación 1, en donde la composición se selecciona de composiciones sólidas, composiciones líquidas, soluciones, emulsiones, microemulsiones, suspensiones, y pulverizadores nasales.
 3. Composición farmacéutica o cosmética según la reivindicación 2, en donde la composición es una solución.
 - 10 4. Composición farmacéutica o cosmética según la reivindicación 3, en donde la solución comprende una solución tampón de fosfatos.
 5. Composición farmacéutica o cosmética según la reivindicación 2, en donde la composición es una suspensión.
 6. Composición farmacéutica o cosmética según la reivindicación 1, en donde la composición es una composición tópica.
 - 15 7. Composición farmacéutica o cosmética según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición contiene de un 0,01% en p/v a un 20% en p/v del péptido.
 8. Composición farmacéutica o cosmética según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición se formula para la administración subdérmica.
 - 20 9. Kit para administrar una composición, donde el kit comprende la composición farmacéutica o cosmética según cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un dispensador.
 10. Kit según la reivindicación 9, que además comprende un componente para facilitar la administración de la composición farmacéutica o cosmética.
 11. Un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que corresponde a Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg-Gly-(Lys)_n-Gly-Arg-Lys-Lys-Arg-Arg-Gln-Arg-Arg-Arg, donde n es de 10 a 20.
- 25