

ANÁLOGOS DE COMPSTATINA Y SUS USOS MÉDICOS

Campo de la invención

La presente invención se refiere a la inhibición de la activación de la cascada del complemento en el cuerpo, y más particularmente a análogos de compstatina que son capaces de unirse a la proteína C3 e inhibir la activación del complemento. La presente invención también se refiere a los usos médicos de los análogos de compstatina, en particular para el tratamiento de afecciones caracterizadas por la activación no deseada de la cascada del complemento, tales como enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias.

10 Antecedentes de la invención

El sistema del complemento humano es un actor poderoso en la defensa contra organismos patógenos y en la mediación de respuestas inmunitarias. El complemento se puede activar a través de tres rutas diferentes: la clásica, la lectina y la alternativa. El principal evento de activación que comparten las tres rutas es la división proteolítica de la proteína central del sistema del complemento, C3, en sus productos de activación C3a y C3b mediante las convertasas C3. La generación de estos fragmentos conduce a la opsonización de las células patógenas por C3b e iC3b, un proceso que las hace susceptibles a la fagocitosis o depuración, y a la activación de las células inmunitarias a través de una interacción con los receptores del complemento (Markiewski & Lambris, 2007, Am. J Pathol., 171: 715 - 727). El depósito de C3b sobre las células diana también induce la formación de nuevos complejos convertasa y,

por lo tanto, inicia un bucle de autoamplificación. Un conjunto de proteínas plasmáticas y unidas a la superficie celular regula cuidadosamente la activación del complemento para evitar que las células anfitrionas se autoataquen por la cascada del complemento. Sin embargo, la activación excesiva o la regulación inapropiada del complemento pueden conducir a una serie de afecciones patológicas, que van desde enfermedades autoinmunitarias hasta enfermedades inflamatorias (Holers, 2003, Clin. Immunol., 107: 140 - 51; Markiewski & Lambris, 2007, supra; Ricklin & Lambris, 2007, Nat. Biotechnol., 25: 1265 - 75; Sahu et al., 2000, J. Immunol., 165: 2491 - 9). Por lo tanto, es muy deseable el desarrollo de inhibidores del complemento terapéuticos. En este contexto, C3 y C3b han surgido como dianas prometedoras porque su función central en la cascada permite la inhibición simultánea del inicio, amplificación y activación cadena abajo del complemento (Ricklin & Lambris, 2007, supra).

La compstatina se identificó por primera vez como un péptido de 27 aminoácidos y fue el primer inhibidor del complemento no derivado del anfitrión que demostró ser capaz de bloquear las tres rutas de activación (Sahu et al., 1996, J. Immunol., 157: 884 - 91; Patente de Estados Unidos No: 6,319,897). Se ha mostrado que es posible truncar la compstatina sin pérdida de actividad a un péptido de 13 aminoácidos. Sin embargo, los intentos de truncar adicionalmente este péptido condujeron a la pérdida de actividad. La secuencia del péptido de compstatina truncado de 13 aminoácidos (o “núcleo”) es Ile¹-

Cys²-Val³-Val⁴-Gln⁵-Asp⁶-Trp⁷-Gly⁸-His⁹-His¹⁰-Arg¹¹-Cys¹²-Thr¹³-NH₂, en la que Cys² y Cys¹² están unidos por enlaces disulfuro. Este tridecapéptido cíclico se une a C3 (y fragmentos de C3), inhibiendo de esta manera la activación de la cascada del complemento cadena abajo y evitando la división de C3 nativo por las convertasas C3. Se confirmó su eficacia inhibidora por una serie de estudios utilizando modelos experimentales que apuntaban a su potencial como agente terapéutico (Fiane et al, 1999a, Xenotransplantation, 6: 52 - 65; Fiane et al., 1999b, Transplant Proc., 31:934 - 935; Nilsson et al., 1998, Blood, 92: 1661 - 1667; Ricklin & Lambris, 2008, Adv. Exp. Med..Biol., 632: 273 - 292; Schmidt et al., 2003, J. Biomed. Mater. Res., A66: 491 - 499; Soulika et al., 2000, Clin. Immunol., 96: 212 - 221).

La optimización progresiva del péptido de compstatina de 13 aminoácidos ha dado lugar a análogos con actividad biológica mejorada (Ricklin & Lambris, 2008, supra; WO 2004/026328; WO 2007/062249, WO 2013/036778, WO 2014/100407).

Estudios de estructura-actividad anteriores han identificado la naturaleza cíclica del péptido de compstatina y la presencia de un grupo de giro β e hidrófobo como características clave de la molécula (Morikis et al., 1998, Protein Sci., 7: 619 - 627; WO 99/13899; Morikis et al., 2002, J. Biol. Chem., 277:14942 - 14953; Ricklin & Lambris, 2008, supra). Se encontró que los residuos hidrófobos en las posiciones 4 y 7 eran de particular importancia, y su modificación con aminoácidos no naturales generó un análogo con una

actividad 264 veces mejorada sobre el péptido de compstatina original (Katragadda et al., 2006, J. Med. Chem. 49: 4616 - 4622; WO 2007/062249). En el documento WO 2007/044668 se describen intentos adicionales de optimizar la compstatina para su uso en el tratamiento de trastornos oculares.

5 Si bien las etapas de optimización anteriores se han basado en estudios de cribado combinatorio, estructuras de solución y modelos computacionales (Chiu et al., 2008, Chem. Biol. Drug Des., 72: 249 - 256; Mulakala et al., 2007, Bioorg. Med. Chem., 15: 1638 - 1644; Ricklin & Lambris, 2008, supra), la publicación de una estructura cocrystalina de compstatina complejada con el
10 fragmento de complemento C3c (Janssen et al., 2007, J. Biol. Chem., 282: 29241 - 29247; WO 2008/153963) proporcionó una base para iniciar la optimización racional. La estructura cristalina reveló un sitio de unión poco profundo en la interfaz de los dominios 4 y 5 de macroglobulina (MG) de C3c y mostró que 9 de los 13 aminoácidos estaban directamente involucrados en la
15 unión, ya sea a través de enlaces de hidrógeno o interacciones hidrófobas. En comparación con la estructura del péptido de compstatina en solución (Morikis et al., 1998, supra), la forma unida de compstatina experimentó un cambio conformacional, con un desplazamiento en la ubicación del giro β de los residuos 5 - 8 a 8 - 11 (Janssen et al., 2007, supra; WO 2008/153963).

20 En vista de su potencial terapéutico en AMD, C3G, PNH y otras enfermedades, siguen siendo un problema en la técnica para optimizar adicionalmente los análogos de compstatina, por ejemplo para lograr una

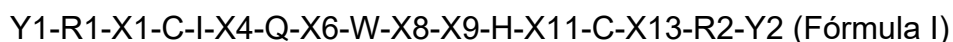
actividad aún mayor y/o modular las propiedades farmacocinéticas, tales como un aumento de la vida media in vivo y/o propiedades fisicoquímicas tales como mayor solubilidad.

Sumario de la invención

5 En términos generales, la presente invención se basa en el trabajo para desarrollar una nueva familia de análogos de compstatina que tienen unión y actividad de inhibición del complemento mejorada en comparación con el péptido de compstatina de 13 aminoácidos (ICVVQDWGHRCT (C2-C12 cíclico)). En algunos casos, estos análogos de compstatina adicionalmente
10 poseen propiedades fisicoquímicas útiles, tales como aumento de solubilidad. En particular, los presentes inventores encontraron que introducir un residuo de isoleucina en la posición 3 en lugar del residuo de valina de tipo natural conduce a péptidos de compstatina con unión y actividad de inhibición del complemento mejorada. Los presentes inventores descubrieron adicionalmente
15 que la introducción de isoleucina en la posición 3 permite la introducción de otras modificaciones, por ejemplo modificaciones que son capaces de aumentar la solubilidad, tal como la introducción de ácido glutámico en la posición 6, en particular aminoácidos cargados o polares en la posición 9, y/o la introducción de secuencias de terminal N y/o C. Ejemplos de dichas
20 modificaciones adicionales incluyen el reemplazo de Ile en la posición 1 con Tyr, Phe o Sar, reemplazo de Val en la posición 4 con Trp, un análogo de Trp (como se describe en la presente memoria); reemplazo de Asp en la posición 6

con Glu; reemplazo de His en la posición 9 con Ala, Glu, Asp, Lys, Ser o Arg; reemplazo de Arg en la posición 11 con Ser; reemplazo de Thr en la posición 13 con Ser, Glu, Sar o Ile. Los péptidos de compstatina preferidos que incluyen una o más de estas modificaciones tienen una solubilidad mejorada, por ejemplo en comparación con el péptido de compstatina de 13 aminoácidos (ICVVQDWGHHRCT (C2-C12 cíclico)). Ejemplos adicionales de estos péptidos de compstatina combinan la modificación en la posición 9 con extensiones al terminal N y/o terminal C del péptido.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona un análogo de compstatina representado por la fórmula:



en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo o un grupo lipófilo Φ ;

X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, F, V, Y, 1-Me-Trp, D-Trp, N-Me-Trp, 1-For-Trp, 1-Nal, 2-Nal, 5-Me-Trp, Bpa o 2-Igl;

X6 es E, K o D;

X8 es G o Sar;

X9 es H, A, E, D, K, R o S;

X11 es R, S o K;

X13 es T, S, E, F, H, K, Sar, G, I, D, N-Me-Ile o N-Me-Thr;

Y2 es NH_2 , OH o un grupo lipófilo Φ ;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos; y

- 5 R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3, Peg4, u 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los
10 residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

y en el que el análogo de compstatina opcionalmente tiene un grupo lipófilo Φ ligado covalentemente a la cadena lateral de uno o más residuos de aminoácidos;

o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 En algunas realizaciones, X11 es R o S.

En algunas realizaciones, si un grupo lipófilo Φ se liga a la cadena lateral de un residuo de aminoácido, ese residuo es el residuo en la posición X1, X11 o X13, o es un residuo en R1 o R2. Puede ser un residuo de lisina. Por ejemplo, puede ser un residuo de lisina en la posición X11 o X13, o un residuo
20 de lisina en R1 o R2.

En algunas realizaciones, Y1 es hidrógeno o acetilo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH_2 u OH.

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ , por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ .

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina no comprende un grupo lipófilo Φ .

- 5 La presente invención proporciona adicionalmente un análogo de compstatina representado por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-X8-X9-H-X11-C-X13-R2-Y2 (Fórmula II)

en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo, o un grupo lipófilo Φ ;

- 10 X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, V, Y, 2-Nal, 1-Nal o 1-Me-Trp;

X6 es E o D;

X8 es G o Sar;

X9 es A, E, D, K o S;

- 15 X11 es R, S o K;

X13 es T, S, E, I, Sar, K, G o N-Me-Ile;

Y2 es NH_2 , OH o un grupo lipófilo Φ ;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o

- 20 β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos, o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos; y

R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, u 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

5 en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

y en el que el análogo de compstatina opcionalmente tiene un grupo lipófilo Φ ligado covalentemente a la cadena lateral de uno o más aminoácidos;

o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En algunas realizaciones, X11 es R o S.

En algunas realizaciones, si un grupo lipófilo Φ se liga a la cadena lateral de un residuo de aminoácido, ese residuo es el residuo en la posición X1, X11 o X13, o es un residuo en R1 o R2. Puede ser un residuo de lisina. Por ejemplo, puede ser un residuo de lisina en la posición X13, o un residuo de

15 lisina en R1 o R2.

En algunas realizaciones, Y1 es hidrógeno o acetilo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH_2 u OH.

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ , por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ .

20 En algunas realizaciones de esta fórmula, el análogo de compstatina no comprende un grupo lipófilo Φ .

La presente invención proporciona adicionalmente un análogo de compstatina representado por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-G-X9-H-X11-C-X13-R2-Y2 (Fórmula III)

en la que:

- 5 Y1 es hidrógeno, acetilo o un grupo lipófilo Φ ;
 - X1 es I, Y, F o Sar;
 - X4 es W, V, Y, 1-Nal, 2-Nal o 1-Me-Trp;
 - X6 es E o D;
 - X9 es A, E, D, K o S;
 - 10 X11 es R, S o K;
 - X13 es T, I, S, E, K o Sar;
 - Y2 es NH_2 , OH o un grupo lipófilo Φ ;
 - R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵLys , γGlu , βAsp , o
 - 15 βAla , o una forma D correspondiente de los mismos, o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos; y
 - R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵLys , γGlu , βAsp , o
 - βAla , o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-
 - 20 aminooctanoílo, o derivados de los mismos;
- en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

y en el que el análogo de compstatina opcionalmente tiene un grupo lipófilo Φ ligado covalentemente a la cadena lateral de uno o más aminoácidos;
o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, X11 es R o S.

5 En algunas realizaciones, si un grupo lipófilo Φ se liga a la cadena lateral de un residuo de aminoácido, ese residuo es el residuo en la posición X1, X11 o X13, o es un residuo en R1 o R2. Puede ser un residuo de lisina. Por ejemplo, puede ser un residuo de lisina en la posición X11 o X13, o un residuo de lisina en R1 o R2.

10 En algunas realizaciones, Y1 es hidrógeno o acetilo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH_2 u OH.

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ , por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ .

15 En algunas realizaciones de esta fórmula, el análogo de compstatina no comprende un grupo lipófilo Φ .

El análogo de compstatina se puede representar por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-G-X9-H-R-C-X13-R2-Y2 (Fórmula IV)

en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo o un grupo lipófilo Φ ;

20 X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, V, Y, 1-Nal, 2-Nal o 1-Me-Trp;

X6 es E o D;

X9 es A, E, D, K o S;

X13 es T, S, E o Sar;

Y2 es NH₂, OH o un grupo lipófilo Φ ;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos
 5 seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o
 β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos, o Peg3, Peg4, o 8-
 aminooctanoílo, o derivados de los mismos; y

R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos
 seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o
 10 β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-
 aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los
 residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

15 y en el que el análogo de compstatina opcionalmente tiene un grupo lipófilo Φ
 ligado covalentemente a la cadena lateral de uno o más aminoácidos;
 o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, si un grupo lipófilo Φ se liga a la cadena lateral
 de un residuo de aminoácido, ese residuo es el residuo en la posición X1, X11
 20 o X13, o es un residuo en R1 o R2. Puede ser un residuo de lisina. Por
 ejemplo, puede ser un residuo de lisina en la posición X13, o un residuo de
 lisina en R1 o R2.

En algunas realizaciones, Y1 es hidrógeno o acetilo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH₂ u OH.

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ, por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ.

- 5 En algunas realizaciones de esta fórmula, el análogo de compstatina no comprende un grupo lipófilo Φ.

En algunas realizaciones de las fórmulas anteriores, X6 es D.

En un aspecto, los análogos de compstatina que no poseen un grupo lipófilo Φ se pueden representar por la fórmula:

- 10 Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-G-X9-H-R-C-X13-R2-Y2 (Fórmula V)

en la que:

Y1 es hidrógeno o acetilo;

X1 es Y o F;

X4 es W, Y, 1-Me-Trp;

- 15 X6 es E o D;

X9 es A, E o K;

X13 es T, E o Sar;

Y2 es NH₂ u OH;

- 20 R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, εLys, γGlu, βAsp, o βAla, o una forma D correspondiente de los mismos, o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos; y

R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

- 5 en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;
- o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

El análogo de compstatina se puede representar por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-[1-Me-Trp]-Q-X6-W-G-E-H-R-C-X13-R2-Y2 (Fórmula VI)

- 10 en la que:

Y1 es hidrógeno o acetilo;

X1 es Y o F;

X6 es E o D;

X13 es T, E o Sar;

- 15 Y2 es NH_2 u OH;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos, o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos; y

- 20 R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o

β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-amino-octanoílo, o derivados de los mismos;

en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

- 5 o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En las fórmulas anteriores X6 puede ser D. Alternativamente puede ser E.

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina tiene la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-X8-X9-H-X11-C-X13-R2-Y2 (Fórmula VII)

- 10 en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo o un grupo lipófilo Φ ;

X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, V, 1-Me-Trp, 1-Nal o 2-Nal;

X6 es E, K o D;

- 15 X8 es G o Sar;

X9 es H, A, E, D, K, R o S;

X11 es R, S, K o K*;

X13 es T, S, E, Sar o N-Me-Ile;

Y2 es NH₂ u OH;

- 20 R1 y R2 pueden ser como se define en cualquiera de las fórmulas anteriores, o en otra parte de esta memoria descriptiva. En algunas realizaciones, R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados

de A, E, G, K, K*, S, Y, o una forma D correspondiente de los mismos; y/o R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, K, K*, P, S, Peg3, γ Glu, 8-aminooctanoílo, o una forma D correspondiente de los mismos;

- 5 en el que * indica que el residuo de aminoácido lleva un grupo lipófilo Φ ligado covalentemente a su cadena lateral.

Puede ser deseable que el análogo de compstatina comprenda al menos un grupo lipófilo Φ , por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ . Alternativamente, puede no comprender un grupo lipófilo Φ .

- 10 En un aspecto alternativo, los análogos de compstatina que comprenden un grupo lipófilo Φ se pueden representar por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-X8-X9-H-X11-C-X13-R2-Y2 (Fórmula VIII)

en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo o un grupo lipófilo Φ ;

- 15 X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, V, Y, 2-Nal, 1-Nal o 1-Me-Trp;

X6 es E o D;

X8 es G o Sar;

X9 es A, E, D, K o S;

- 20 X11 es R, S o K*;

X13 es T, S, E, I, Sar, K, G o N-Me-Ile;

Y2 es NH_2 , OH o un grupo lipófilo Φ ;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K*, F, P, S, T, W, Y, R, V o Sar, o una forma D correspondiente de los mismos;

R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

en el que * indica que el residuo de aminoácido lleva un grupo lipófilo Φ ligado covalentemente a su cadena lateral;

en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

y en el que el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ , por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ ;

o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH_2 u OH.

El análogo de compstatina se puede representar por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-G-X9-H-X11-C-X13-R2-Y2 (Fórmula IX)

en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo, o un grupo lipófilo Φ ;

X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, V, Y, 1-Nal, 2-Nal o 1-Me-Trp;

X6 es E o D;

X9 es A, E, D, K o S;

X11 es R, S o K*;

X13 es T, I, S, E, K o Sar;

Y2 es NH₂, OH o un grupo lipófilo Φ;

- 5 R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K*, F, P, S, T, W, Y, R, V o Sar, o una forma D correspondiente de los mismos;
- R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K* F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, εLys, γGlu, βAsp,
- 10 o βAla, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;
- en el que * indica que el residuo de aminoácido lleva un grupo lipófilo Φ unido covalentemente a su cadena lateral;
- en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los
- 15 residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;
- y en el que el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ, por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ;
- o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH₂ u OH.

- 20 El análogo de compstatina se puede representar por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-X4-Q-X6-W-G-X9-H-R-C-X13-R2-Y2 (Fórmula X)

en la que:

Y1 es hidrógeno, acetilo o un grupo lipófilo Φ ;

X1 es I, Y, F o Sar;

X4 es W, V, 1-Nal, 2-Nal o 1-Me-Trp;

X6 es E o D;

5 X9 es A, E, D, K o S;

X13 es T, S, E o Sar;

Y2 es NH_2 , OH o un grupo lipófilo Φ ;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K*, F, P, S, T, W, Y, R, V o Sar, o una forma D

10 correspondiente de los mismos;

R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K*, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵLys , γGlu , βAsp , o βAla , o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

15 en el que * indica que el residuo de aminoácido lleva un grupo lipófilo Φ unido covalentemente a su cadena lateral de aminoácido;

en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

y en el que el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ ,

20 por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ ;

o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, Y2 es NH_2 u OH.

En cualquiera de las fórmulas anteriores, X6 puede ser D.
Alternativamente X6 puede ser E.

En cualquiera de las fórmulas anteriores, X1 puede ser Y.
Alternativamente X1 puede ser F.

- 5 En cualquiera de las fórmulas anteriores, X13 puede ser Sar.
Alternativamente X13 puede ser T.

Adicionalmente o alternativamente, cualquiera de las fórmulas anteriores puede comprender una de las siguientes combinaciones de residuos:

- X4 es 1-Me-Trp y X9 es E.
- 10 X1 es F, X4 es 1-Me-Trp y X9 es E.
X4 es 1-Me-Trp, X9 es E y X13 es Sar.
X4 es 1-Me-Trp, X9 es E y X13 es T.
X4 es 1-Me-Trp, X6 es D, X9 es E y X13 es Sar.
X4 es 1-Me-Trp, X6 es E, X9 es E y X13 es Sar.
- 15 X4 es 1-Me-Trp, X6 es D, X9 es E y X13 es T.
X4 es 1-Me-Trp, X6 es E, X9 es E y X13 es T.

El análogo de compstatina se puede representar por la fórmula:

Y1-R1-X1-C-I-[1-Me-Trp]-Q-X6-W-G-E-H-R-C-X13-R2-Y2 (Fórmula XI)

en la que:

- 20 Y1 es hidrógeno o acetilo;
X1 es Y o F;
X6 es E o D;

X13 es T, E o Sar;

Y2 es NH₂ u OH;

R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K*, F, P, S, T, W, Y, R, V o Sar, o una forma D

5 correspondiente de los mismos;

R2 está ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, K* F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, εLys, γGlu, βAsp, o βAla, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3 o Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos;

10 en el que * indica que el residuo de aminoácido lleva un grupo lipófilo Φ unido covalentemente a su cadena lateral;

en el que el análogo de compstatina tiene un enlace de disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12;

y en el que el análogo de compstatina comprende al menos un grupo lipófilo Φ,

15 por ejemplo, exactamente un grupo lipófilo Φ;

o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, la porción de péptido de 13-mero (X1-X13) del análogo de compstatina tiene una secuencia seleccionada de:

[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar];

20 [Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)T;

[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)T;

[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar];

- [Sar]C(1)IWQDWGEHRC(1)T;
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar];
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)T;
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHKC(1)[Sar];
 5 FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar];
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)E;
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)S;
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)T;
 FC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar];
 10 FC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)T;
 FC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)T;
 FC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar];
 FC(1)IWQDWGEHRC(1)T;
 IC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]AHRC(1)[N-Me-Ile];
 15 IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar];
 IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)T;
 IC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)[Sar];
 IC(1)IWQDWGAHRC(1)E;
 IC(1)IWQDWGAHRC(1)T;
 20 IC(1)IWQDWGAHSC(1)T;
 IC(1)IWQDWGDHRC(1)T;
 IC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar];

- IC(1)IWQDWGEHRC(1)E;
 IC(1)IWQDWGEHRC(1)S;
 IC(1)IWQDWGEHRC(1)T;
 IC(1)IWQDWGEHSC(1)T;
 5 IC(1)IWQDWGKHRC(1)T;
 IC(1)IWQDWGRHRC(1)T;
 IC(1)IWQDWGSHRC(1)T;
 IC(1)IWQEWGEHRC(1)T;
 IC(1)IWQKWGAHRC(1)T;
 10 IC(1)IWQKWGEHRC(1)T;
 YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar];
 YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)T;
 YC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar];
 YC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)T;
 15 YC(1)IWQDWGEHRC(1)T;
 YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEH[K*]C(1)[Sar]; y
 YC(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)[Sar];

en la que * indica que el residuo de aminoácido lleva un grupo lipófilo Φ unido covalentemente a su cadena lateral.

- 20 En algunas realizaciones, R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, R, V o Sar, o una forma D correspondiente de los mismos, y/o R2 puede ser una

secuencia de 1 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, R, V o Sar, o una forma D correspondiente de los mismos.

Por ejemplo, R1 se selecciona de ESSA, AKGE, ASSE, ASES, GSAE, ESSE, ESGA, SEG, GES, ESS, EGSA, ESE, EGE, ESA, SAE, SGA, YLEA,
 5 GSA, KEK, EKG, ES, AS, SE, SA o E, y/o R2 se selecciona de GAES, EYGS, EGYA, EAGS, EAKS, EKSA, EGGS, EGGA, ESSG, ESAG, GEES, AEES, ESEG, AEGS, ESGS, SEGA, SEG, ESG, EAG, GAE, EGEA, EGE, EA, E, GE, EG, EKE o EKP.

En realizaciones alternativas, R1 está ausente o es una secuencia de 1
 10 a 6 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos, o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos.

En algunas realizaciones, R1 está ausente o es una secuencia de 1 a 6
 15 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V o Sar, o una forma D correspondiente de los mismos.

Por ejemplo, R1 puede estar ausente o ser una secuencia de 1 a 6
 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, K, S y Y, o una forma D correspondiente de los mismos.

Un grupo lipófilo Φ se puede ligar covalentemente a la cadena lateral de
 20 uno o más de los residuos en Y1, especialmente a la cadena lateral de un residuo de lisina (que se puede designar K*). Puede ser deseable que el residuo que lleva Φ esté en el terminal N de Y1.

Ejemplos de secuencias para el grupo R1 incluyen:

{d}Y, EGSE, AGSE, SASE, EYSE, GSE, ASE, ESSA, KGSA, AKGE, ASGE, ASSE, ASES, GSAE, ESSE, ESGA, SEG, GES, ESS, EGSA, ESE, EGE, ESA, SAE, SGA, YLEA, GSA, KEK, EKG, ES, RS, SR, AE, TE, KE, GE, FE, YE, AS, SE, RS, SR, SA, GE, S, Y y E.

En algunas realizaciones, R1 tiene dos residuos de aminoácidos en longitud, por ejemplo, AE, TE, KE, GE, FE, YE, AS, SE, SA, o GE; preferentemente AE, TE, KE, GE, FE, YE, SE, o GE.

En algunas realizaciones, R1 tiene un aminoácido en longitud, por ejemplo, E.

Como se mencionó anteriormente, un grupo lipófilo Φ se puede ligar covalentemente a la cadena lateral de uno o más de los residuos en Y1, especialmente a la cadena lateral de un residuo de lisina (que se puede designar K*), por ejemplo, para producir una secuencia K*GSA.

R2 puede estar ausente o es una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, L, K, F, P, S, T, W, Y, R, V, Sar, ϵ Lys, γ Glu, β Asp, o β Ala, o una forma D correspondiente de los mismos; o Peg3, Peg4, o 8-aminooctanoílo, o derivados de los mismos.

Por ejemplo, R2 puede estar ausente o ser una secuencia de 1 a 8 residuos de aminoácidos seleccionados de A, E, G, K, S, γ Glu, Peg3 o 8-aminooctanoílo o seleccionados de A, E, G, K y S.

Cuando K está presente en R2, puede ser deseable que K esté presente en el terminal C de R2.

Un grupo lipófilo Φ se puede ligar covalentemente a la cadena lateral de uno o más de los residuos en Y2, especialmente a la cadena lateral de un residuo de lisina. Puede ser deseable que el residuo que lleva Φ esté en el terminal C de Y2.

Ejemplos de secuencias para el grupo R2 incluyen:

EGASGSG, EGAGSG, EGASAG, EGAGAG, EGESGSG, EGECSG, EGESAG, EGECSG, EK[γ Glu]AK, EGECSG, EGAGG, EGESS, GAESK, EGAK, EGEK, EGG, EGK, EGKK, EGS, EK, EGA, EGAK, EK[γ Glu], EK[γ Glu]-K, EGE-[Peg3], EGE[Peg3]-K, EGE[Peg3][Peg3], EGE[Peg3][Peg3]-K, EGE[Peg3][Peg3][Peg3], GESESE, GAESSES, EGESSES, EGESSESK, EGE[Peg3]-ES, EGE[Peg3]-ESK, GESESE, EGE-[8-aminooctanoil], EGE-[8-aminooctanoil]-K, EGE-[8-aminooctanoil]-EK, EGECSG, EGECSGK, EK[γ Glu]GGG, EK[γ Glu]GGGK, EGE-[8-aminooctanoil]-E, GAES, EYGS, EGYA, EAGS, EAKS, EKSA, ESGA, EGGS, EGGA, ESSG, ESAG, GEES, AEES, ESEG, AEGS, ESGS, SEGA, SEG, EGK, ESG, EAG, GAE, EGEA, EGE, EA, E, S, GE, GEK, EG, EA, EKE y EKP.

Ejemplos de secuencias para el grupo R2 incluyen:

EGASGSG, EGAGSG, EGASAG, EGAGAG, EGESGSG, EGECSG, EGESAG, EGECSG, EK[γ Glu]AK, EK[γ Glu]A, EGECSG, EGAGG, EGESS, GAESK, EGAK, EGEK, EGG, EGK, EGKK, EGS, EK, EGA, EGAK, EK[γ Glu], EK[γ Glu]-K,

- EGE[Peg3], EGE[Peg3]-K, EGE[Peg3][Peg3], EGE[Peg3][Peg3]-K, EGE[Peg3][Peg3][Peg3], EGE[Peg3][Peg3][Peg3]-K GESESE, GAESSES, EGESES, EGESESK, EGE[Peg3]-ES, EGE[Peg3]-ESK, GESESE, EGE-[8-aminooctanoil], EGE-[8-aminooctanoil]-K, EGE-[8-aminooctanoil]-EK,
- 5 EGE GGG, EGE GGGK, EK[γ Glu]GGG, EK[γ Glu]GGGK, EGE-[8-aminooctanoil]-E, E[Peg3][Peg3], E[Peg3][Peg3]-K, EA[Peg3][Peg3], EA[Peg3][Peg3]-K, GAES, EYGS, EGYA, EAGS, EAKS, EKSA, ESGA, EGGS, EGGA, ESSG, ESAG, GEES, AEES, ESEG, AEGS, ESGS, SEGA, SEG, EGK, ESG, EAG, GAE, EGEA, EGE, EA, E, S, GE, GEK, EG, EA, EKE y EKP.
- 10 Como se mencionó anteriormente, un grupo lipófilo Φ se puede ligar covalentemente a la cadena lateral de uno o más de los residuos en Y2, especialmente la cadena lateral de un residuo de lisina, por ejemplo, para producir una secuencia EK[γ Glu]AK*, EGKK*, EK[γ Glu]K*, EGE[Peg3]-K*, EGESESK*, EGE[Peg3]-ESK*, EGE-[8-aminooctanoil]-K*, EGE-[8-
- 15 aminooctanoil]-EK*, EGE GGGK*, EK[γ Glu]GGGK*, EGE[Peg3][Peg3]-K*, GAESK*, EGA K*, EGEK*, EGK* EGE[Peg3]-ESK*, GESESEK*, GEK* o EK*.

Como se mencionó anteriormente, un grupo lipófilo Φ se puede ligar covalentemente a la cadena lateral de uno o más de los residuos en Y2, especialmente la cadena lateral de un residuo de lisina, por ejemplo, para

20 producir una secuencia EK[γ Glu]AK*, EGKK*, EK[γ Glu]K*, EGE[Peg3]-K*, EGESESK*, EGE[Peg3]-ESK*, EGE-[8-aminooctanoil]-K*, EGE-[8-aminooctanoil]-EK*, EGE GGGK*, EK[γ Glu]GGGK*, EGE[Peg3][Peg3]-K*,

EGE[Peg3][Peg3][Peg3]-K*, E[Peg3][Peg3]-K*, EA[Peg3][Peg3]-K*, GAESK*, EGAK*, EGEK*, EGK* EGE[Peg3]-ESK*, GESESEK*, GEK* o EK*.

En el que R1 o R2 es un aminoácido de longitud, puede ser un aminoácido D, por ejemplo, {d}Y.

- 5 R1 y R2 pueden estar presentes o ausentes independientemente. Puede ser deseable que R2 esté presente. Sin desear estar limitado a ninguna teoría en particular, se considera que la presencia de R1 y/o R2 puede mejorar la estabilidad de los compuestos.

Las clases preferidas de análogos de compstatina y los compuestos
10 ejemplificados se discuten adicionalmente a continuación.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición que comprende un análogo de compstatina de la presente invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en
mezcla con un portador. En algunos casos, la composición es una composición
15 farmacéutica y el portador es un portador farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un análogo de compstatina de la presente invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en mezcla con un portador, excipiente o vehículo farmacéuticamente
20 aceptable.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un análogo de compstatina de la presente invención para su uso en terapia.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un análogo de compstatina de la presente invención para su uso en un procedimiento de inhibición de activación del complemento. A modo de ejemplo, inhibir la activación del complemento incluye una o más actividades biológicas seleccionadas de (1) unir a proteína C3, (2) unir a proteína C3b y/o (3) inhibir la división de C3 nativo mediante convertasas C3. Ejemplos de enfermedad o afección que se puede tratar con los análogos de compstatina de la presente invención se discuten a continuación.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un análogo de compstatina de la presente invención para su uso en un procedimiento de inhibición de activación del complemento que ocurre durante trasplante de células u órganos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento de inhibición de activación del complemento para tratamiento de un sujeto en necesidad del mismo, el procedimiento comprende administrar al sujeto un análogo de compstatina de la presente invención para inhibir de esta manera la activación del complemento en el sujeto. Ejemplos de enfermedad o afección que se puede tratar con los análogos de compstatina de la presente invención se discuten a continuación.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento *ex vivo* de inhibición de activación del complemento durante la derivación extracorpórea de un fluido fisiológico, el procedimiento comprende

poner en contacto el fluido fisiológico con una compstatina de la presente invención, para inhibir de esta manera la activación del complemento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un análogo de compstatina de la presente invención en la preparación de un medicamento para inhibir la activación del complemento. Ejemplos de enfermedad o afección que se puede tratar con los análogos de compstatina de la presente invención se discuten a continuación.

Las realizaciones de la presente invención se describirán ahora a modo de ejemplo y no de limitación.

10 Descripción de las figuras

Figura 1 (a-f): Actividad "ex vivo" normalizada de la ruta alternativa del complemento a lo largo del tiempo después de la administración de un compuesto de prueba en el tiempo 0 a uno o dos primates no humanos. Los compuestos se proporcionaron por vía subcutánea a una dosis de 1840 nmol/kg. La actividad del complemento (ruta alternativa) se midió utilizando el kit Wieslab. La actividad se normalizó utilizando la muestra previa a la dosis (0) (ajustada al 100%) y el control negativo incluido en el kit. Se muestra la actividad normalizada o la actividad normalizada promedio para ambos animales y la desviación estándar. (a) compuesto 61 (2 animales), (b) compuesto 123, compuesto 126 y compuesto 128, todos con un animal por compuesto y Cp40 (2 animales), (c) compuesto 107, compuesto 111, compuesto 118 & compuesto 119 todos con 2 animales por compuesto, (d)

compuesto 104 y compuesto 106 con 2 animales por compuesto, (e) compuesto 54 (2 animales), y compuesto 122, compuesto 124, compuesto 139, y compuesto 140 todos con 1 animal por compuesto, y (f) compuesto 141, compuesto 142, compuesto 127 y compuesto 130, todos con un animal por
5 compuesto.

Descripción detallada

“Y/o”, cuando se utiliza en la presente memoria, se debe tomar como una divulgación específica de cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por ejemplo, “A y/o B” se debe
10 tomar como divulgación específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, solo como si cada uno se estableciera individualmente en la presente memoria.

A menos que el contexto indique lo contrario, las descripciones y definiciones de las características expuestas anteriormente no se limitan a ningún aspecto o realización particular de la invención y se aplican igualmente
15 a todos los aspectos y realizaciones que se describen.

A lo largo de la memoria descriptiva se citan diversas publicaciones, que incluyen patentes, solicitudes publicadas, artículos técnicos y artículos académicos. Cada una de estas publicaciones citadas se incorpora en la presente memoria como referencia, en su totalidad.

20 A menos que se defina lo contrario en la presente memoria, los términos científicos y técnicos utilizados en esta solicitud tendrán los significados que entienden comúnmente aquellos expertos en la técnica. Generalmente, la

5 nomenclatura utilizada en relación con y las técnicas de química, biología molecular, biología celular y del cáncer, inmunología, microbiología, farmacología y química de proteínas y ácidos nucleicos, descritas en la presente memoria, son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica.

Cada realización de la invención descrita en la presente memoria se puede tomar sola o en combinación con una o más de otras realizaciones de la invención.

10 A menos que se especifique lo contrario, las siguientes definiciones se proporcionan para términos específicos que se utilizan en la presente descripción escrita.

Definiciones

15 A lo largo de esta memoria descriptiva, se entenderá que la palabra “comprender”, y variantes gramaticales de la misma, como “comprende” o “que comprende”, implican la inclusión de un número entero o componente, o un grupo de números enteros o componentes, pero no la exclusión de cualquier otro entero o componente, o grupo de enteros o componentes.

Las formas singulares “un”, “una” y “el” incluyen los plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

20 El término “que incluye” se utiliza para significar “que incluye pero no se limita a”. “Que incluye” y “que incluye pero no se limita a” se pueden utilizar indistintamente.

Los términos “paciente”, “sujeto” e “individuo” se pueden utilizar indistintamente. Un sujeto puede ser un mamífero, que incluye un humano o un mamífero no humano, tal como un primate no humano (por ejemplo, simio, mono del Viejo Mundo o mono del Nuevo Mundo), animal de ganado (por ejemplo, bovino o porcino), animal de compañía (por ejemplo, canino o felino) o un animal de laboratorio como un roedor (por ejemplo, ratón o rata).

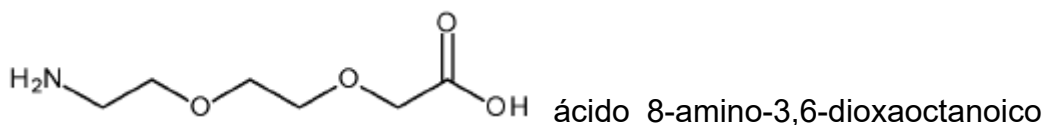
A lo largo de la presente descripción y reivindicaciones, se utilizan los códigos convencionales de tres y una letra para aminoácidos de origen natural, es decir, A (Ala), G (Gly), L (Leu), I (Ile), V (Val), F (Phe), W (Trp), S (Ser), T (Thr), Y (Tyr), N (Asn), Q (Gln), D (Asp), E (Glu), K (Lys), R (Arg), H (His), M (Met), C (Cys) y P (Pro); así como códigos de tres letras generalmente aceptados para otros α -aminoácidos, tales como norleucina (Nle), sarcosina (Sar), ácido α -aminoisobutírico (Aib), ácido 2,3-diaminopropanoico (Dap), ácido 2,4-diaminobutanoico (Dab) y ácido 2,5-diaminopentanoico (ornitina; Orn), 1-metil-triptófano (1-Me-Trp, 1Me-Trp o 1MeTrp), 1-formil-triptófano (1-For-Trp o 1For-Trp o 1ForTrp), 1-naftalin (1-Nal o 1Nal), 2-naftalin (2-Nal o 2Nal), 5-metil-triptófano (5-Me-Trp o 5Me-Trp o 5MeTrp), p-Benzoil-fenilalanina (Bpa) 2-indanilglicina (2Igl o 2-Igl). Otros α -aminoácidos se pueden mostrar entre corchetes “[]” (por ejemplo, “[Nle]”) cuando se utilizan en una fórmula o secuencia general en la presente memoria descriptiva, especialmente cuando el resto de la fórmula o secuencia se muestra utilizando el código de una letra. Los 20 aminoácidos “de origen natural” enumerados anteriormente son

aquellos que están codificados por el código genético estándar, y también se pueden denominar como aminoácidos “proteinogénicos”.

Gamma-Glu y beta-Asp, también conocidos como γ Glu (γ -Glu) y β Asp (β -Asp) (o isoGlu e isoAsp), se refieren al glutamato o aspartato que participan en enlaces peptídicos a través del ácido γ o β -carboxílico respectivamente (normalmente considerados como grupos carboxilo de cadena lateral), en lugar de la configuración convencional. De manera similar, ϵ Lys o isoLys se refiere a lisina que participa en un enlace peptídico a través del grupo amino épsilon (normalmente considerado como el grupo amino de la cadena lateral) en lugar del grupo alfa amino.

Beta-Ala, también denominada β -Ala o β Ala, se refiere al ácido 3-aminopropanoico.

Peg3 se refiere a un residuo de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (también conocido como ácido {2-[2-aminoetoxi]etoxi}acético) y Peg4 se refiere a un residuo de ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico. El residuo también se puede denominar [8-amino-3,6-dioxaoctanoílo].



(Peg3)

A menos que se especifique lo contrario, los residuos de aminoácidos en los péptidos de la invención son de configuración L. Sin embargo, en algunos casos, se pueden incorporar aminoácidos de configuración D. En el presente

contexto, un código de aminoácido escrito con una letra minúscula representa la configuración D de dicho aminoácido, por ejemplo, “k” representa la configuración D de lisina (K), o un aminoácido de configuración D se puede escribir como (d)X o {d}X, en el que X es el aminoácido, por ejemplo, (d)Y o
 5 {d}Y representa la configuración D de tirosina (Y).

Los residuos de cisteína mostrados como “C(1)” indican que sus cadenas laterales participan en un enlace disulfuro. Por lo tanto, normalmente habrá dos de dichos residuos en cualquier molécula dada.

Los grupos terminales presentes en los terminales N y C de la estructura
 10 principal del péptido se denominan Y1 e Y2 respectivamente. Por lo tanto, Y1 se une al átomo de nitrógeno del grupo amino de terminal N e Y2 se une al átomo de carbono del carbonilo de terminal C.

Y1 = hidrógeno (también indicado como “H-” o “Hy-”) indica un átomo de hidrógeno, que corresponde a la presencia de un grupo amino primario o
 15 secundario libre en el terminal N. Y1 = acetilo (“Ac”) indica la presencia de un grupo acetil amida secundario de terminal N.

Y2 = “OH” o “NH₂” indica la presencia de un grupo carboxi (COOH) o un grupo amido (CONH₂) en el terminal C de la molécula.

Cualquiera o ambos de Y1 e Y2 pueden ser alternativamente un grupo
 20 lipófilo Φ. Normalmente, solo uno de Y1 o Y2 será un grupo lipófilo Φ.

En algunas realizaciones, si o no la molécula comprende un grupo lipófilo en otros lugares, Y2 es NH_2 u OH. En algunas realizaciones, Y1 es hidrógeno o acetilo, y Y2 es OH o NH_2 .

En algunas realizaciones, si o no la molécula comprende un grupo lipófilo en otros lugares, Y2 es NH_2 . En algunas realizaciones, Y1 es hidrógeno o acetilo, y Y2 es NH_2 .

En algunas realizaciones, si o no la molécula comprende un grupo lipófilo en otros lugares, Y2 es NH_2 y Y1 es acetilo.

Se utilizan varios términos relacionados con los procedimientos y otros aspectos de la presente invención a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones. A dichos términos se les debe dar su significado corriente en la técnica a menos que se indique lo contrario. Otros términos definidos específicamente se deben interpretar de manera consistente con la definición proporcionada en la presente memoria. El término “aproximadamente” como se utiliza en la presente memoria cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad, una duración temporal y similares, pretende abarcar variaciones de $\pm 20\%$ o $\pm 10\%$, en algunas realizaciones $\pm 5\%$, en algunas realizaciones $\pm 1\%$, y en algunas realizaciones $\pm 0,1\%$ del valor especificado, ya que dichas variaciones son apropiadas para preparar y utilizar los compuestos y composiciones divulgados.

El término “compstatina de longitud completa” como se utiliza en la presente memoria se refiere a un péptido de 27 aminoácidos que tiene la

secuencia IC(1)VVQDWGHHRC(1)TAGHMANLTSHASAI, en la que C(1) indica el residuo de cisteína unido por un enlace disulfuro. Como se describió anteriormente, una forma truncada de la compstatina de longitud completa, el tridecapéptido Ile¹-Cys²-Val³-Val⁴-Gln⁵-Asp⁶-Trp⁷-Gly⁸-His⁹-His¹⁰-Arg¹¹-Cys¹²-
5 Thr¹³-NH₂ ligado por un enlace disulfuro entre los residuos de cisteína en las posiciones 2 y 12 retiene la actividad del péptido de longitud completa. Una versión acetilada en el terminal N de este péptido tridecapéptido se denomina en la presente memoria “Ac-compstatina”.

El término “análogo de compstatina” se refiere a una Ac-compstatina
10 modificada que comprende una o más sustituciones de aminoácidos naturales y no naturales, o análogos de aminoácidos, así como modificaciones dentro o entre varios aminoácidos, como se describe con mayor detalle en la presente memoria. Un análogo de compstatina puede comprender aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 modificaciones de aminoácidos con respecto a Ac-compstatina. Un
15 análogo de compstatina puede comprender 5, 6, 7, 8 o más modificaciones de aminoácidos con respecto a Ac-compstatina. Un análogo de compstatina puede comprender aproximadamente 5, 6, 7 u 8 modificaciones de aminoácidos con respecto a Ac-compstatina.

El término “análogo” se utiliza frecuentemente para una proteína o
20 péptido en cuestión antes de que experimente una modificación química adicional (derivatización), y en particular acilación. El producto resultante de dicha modificación química (derivatización) a veces se denomina como un

“derivado” o “análogo acilado”. Sin embargo, en el contexto de esta solicitud, el término “análogo” designa análogos de Ac-compstatina así como derivados (acilados) de dichos análogos de Ac-compstatina.

Cuando se hace referencia a la posición de los aminoácidos o análogos dentro de Ac-compstatina o análogos de compstatina, las posiciones se numeran desde el 1 (Ile en compstatina) hasta 13 (Thr en compstatina). Por ejemplo, el residuo Gly ocupa la “posición 8”. Como se utiliza para describir los péptidos de análogos de compstatina de la presente invención, “C(1)” denota un enlace disulfuro entre los residuos de cisteína respectivos en el análogo de compstatina.

Los términos “farmacéuticamente activo” y “biológicamente activo” se refieren a la capacidad de los compuestos de la invención para unirse a C3 o fragmentos del mismo e inhibir la activación del complemento. Las actividades biológicas de los análogos de compstatina se pueden medir mediante uno o más de varios ensayos reconocidos en la técnica, como se describe con mayor detalle en la presente memoria.

Como se utiliza en la presente memoria, “L-aminoácido” se refiere a cualquiera de los alfa-aminoácidos levorrotatorios de origen natural normalmente presentes en proteínas o los ésteres de alquilo de esos alfa-aminoácidos. El término “D-aminoácido” se refiere a alfa-aminoácidos dextrorrotatorios. A menos que se especifique lo contrario, todos los aminoácidos mencionados en la presente memoria son L-aminoácidos.

“Hidrófobo” o “no polar” se utilizan como sinónimos en la presente memoria y se refieren a cualquier interacción inter o intramolecular no caracterizada por un dipolo.

Como se utiliza en la presente memoria, “sales farmacéuticamente
5 aceptables” se refiere a derivados de los compuestos divulgados en los que el compuesto original se modifica al producir sales ácidas o básicas del mismo. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos
10 carboxílicos; y similares. Por lo tanto, el término “sal de adición de ácido” se refiere a la sal correspondiente derivada de un compuesto original que se ha preparado mediante la adición de un ácido. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto original formado, por ejemplo, de ácidos inorgánicos u
15 orgánicos. Por ejemplo, dichas sales convencionales incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico,
20 pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isetiónico y similares. Ciertos compuestos ácidos o

básicos de la presente invención pueden existir como iones híbridos. Se contempla que todas las formas de los compuestos, que incluyen el ácido libre, la base libre y los iones híbridos, estén dentro del alcance de la presente invención.

5 Análogos de compstatina

Se sabe que la Ac-compstatina, un péptido de 13 aminoácidos acetilado en el terminal N, se une a C3 y evita la división mediada por convertasa C3. Desde su descubrimiento por presentación de fagos, se ha llevado a cabo la modificación de la secuencia de Ac-Compstatina de 13 aminoácidos en un
10 esfuerzo por encontrar análogos con mayor actividad biológica. Sin embargo, en la secuencia central entre los dos residuos de cisteínas en las posiciones 2 y 12, los experimentos de exploración de alanina han producido análogos que muestran solo mejoras modestas en la actividad biológica, con pocas modificaciones toleradas. Las modificaciones incluyen cambiar la valina en la
15 posición 4 a triptófano, o un análogo de triptófano, que conduce a un aumento en la actividad biológica y cambiar la histidina en la posición 9 a alanina o análogos de la misma.

En particular, se ha mostrado que los intentos previos de introducir modificaciones en el residuo de valina en la posición 3, reemplazándolo con
20 glicina, alanina, D-valina o leucina, conducen a una disminución de la actividad biológica. En contraste con estos hallazgos de la técnica anterior, los presentes inventores encontraron sorprendentemente que un cambio de valina a

isoleucina es bien tolerado y proporciona mejoras en la actividad biológica, como se muestra en los Ejemplos a continuación.

Sin desear estar limitados a ninguna teoría específica, los presentes inventores razonaron que esta modificación se podría combinar con la introducción de uno o más aminoácidos polares o cargados en la secuencia central y se puede utilizar como un enfoque para aumentar la capacidad de solubilizar de los péptidos de compstatina. Inicialmente, el ácido glutámico o la serina en la posición 9 se combinaron con valina 3 y condujeron a una disminución de la actividad en comparación con la secuencia de referencia 4W9A. Sin embargo, cuando estos cambios se combinaron con la introducción de isoleucina en la posición 3, se observó un aumento sorprendente en la actividad biológica, en particular para la combinación de isoleucina en la posición 3 y ácido glutámico en la posición 9. Esta observación se correlaciona con una mejor unión a C3 medida por resonancia de plasmón de superficie (SPR), véase Tabla 7.

En una serie adicional de experimentos para validar estos hallazgos, los péptidos de compstatina con ácido glutámico en la posición 9 se combinan con diferentes sustituciones en la posición 3 que normalmente se considerarían reemplazos “conservadores” de la isoleucina, lo que nuevamente muestra que los péptidos con isoleucina en la posición 3 son más activos.

Tomados en conjunto, estos experimentos muestran que reemplazar el residuo de valina en la posición 3 con isoleucina proporciona

sorprendentemente péptidos de compstatina que tienen una actividad biológica aumentada y una unión mejorada a C3. Adicionalmente, los experimentos demuestran sorprendentemente que estos cambios se pueden combinar fácilmente con otras modificaciones en la secuencia central de los análogos de compstatina y con la adición de secuencias de terminales N y C, por ejemplo, para mejorar la solubilidad de los péptidos de compstatina, por ejemplo, a concentraciones más altas.

La introducción de isoleucina en lugar de valina en la posición 3 de un compuesto adicional de la técnica anterior denominado "Cp40" (Qu et al., Immunobiology 2013, 281(4): 496-505; también denominado en ese documento como "péptido 14) también aumentó la afinidad de unión a C3 medida por SPR.

En cualquier realización X1 puede ser Y, I o F. En cualquier realización, X4 puede ser W, V, 1-Nal, 2-Nal o 1-Me-Trp. En cualquier realización, X6 puede ser E o D. En cualquier realización, X9 puede ser A, E, D, K o S. En cualquier realización, X13 puede ser T, S, E, I, Sar, K, o G. En cualquier realización, X13 puede ser T, I, S, E, K o Sar. En cualquier realización, X13 puede ser T, S, E o Sar.

Sustituyentes lipófilos

Los análogos de compstatina pueden tener un grupo lipófilo, designado Φ .

El grupo lipófilo puede estar ligado covalentemente al terminal N y/o al terminal C de la molécula, es decir, Y1 puede ser Φ (en lugar de H o Ac) y/o Y2 puede ser Φ (en lugar de OH o NH₂).

Adicional o alternativamente, el grupo lipófilo se puede ligar covalentemente a la cadena lateral de un residuo de aminoácido dentro del análogo. El residuo puede ser parte de R1, R2 o la porción análoga de compstatina X1-X13 de la molécula.

El grupo lipófilo Φ se une normalmente a través de un grupo acilo. Por lo tanto, la modificación se puede denominar acilación, pero también se puede denominar lipidación.

El grupo lipófilo incluye un grupo alquileo de cadena larga derivado de un ácido graso, denominado Z¹ en la presente memoria y se refiere como el sustituyente lipófilo. Sin estar limitado por la teoría, se considera que un sustituyente lipófilo se une a las proteínas plasmáticas (por ejemplo, albúmina) en el torrente sanguíneo, protegiendo de esta manera los compuestos empleados en el contexto de la invención de la degradación enzimática y mejorando de esta manera la vida media de los compuestos. El sustituyente lipófilo también puede modular la potencia del compuesto.

Z¹ se puede unir directamente a la secuencia de aminoácidos (que incluyen las extensiones R1 y R2, o como Y1) o mediante un separador Z² como se define en la presente memoria.

En otras palabras, Φ puede ser Z¹- o Z¹-Z²-.

En el que Y1 es Φ , Φ es preferentemente Z^1 -.

En el que el grupo lipófilo Φ se liga a una cadena lateral de aminoácido (es decir, en el que Y1 es hidrógeno o Ac) Φ puede ser preferentemente Z^1 - Z^2 -.

En determinadas realizaciones, solo una cadena lateral de aminoácido
5 se conjuga con un sustituyente lipófilo. En otras realizaciones, cada una de las dos cadenas laterales de aminoácidos se conjuga con un sustituyente lipófilo. En aún realizaciones adicionales, tres o incluso más cadenas laterales de aminoácidos se conjugan cada una con un sustituyente lipófilo. Cuando un compuesto contiene dos o más sustituyentes lipófilos, pueden ser sustituyentes
10 iguales o diferentes.

En ciertas realizaciones, solo un grupo lipófilo Φ está presente en la molécula.

El término “conjugado” se utiliza en la presente memoria para describir la unión covalente de una fracción química identificable a otra, y la relación
15 estructural entre dichas fracciones. No se debe considerar que implican ningún procedimiento de síntesis en particular. El uno o más separadores Z^2 , cuando están presentes, se utilizan para proporcionar una separación entre el compuesto y el sustituyente lipófilo Z^1 .

Un sustituyente lipófilo puede estar unido a un nitrógeno de terminal N, o
20 a una cadena lateral de aminoácidos o a un separador mediante un éster, un éster de sulfonilo, un tioéster, una amida o una sulfonamida. De acuerdo con lo anterior, se entenderá que un sustituyente lipófilo puede incluir un grupo acilo,

un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S que forma parte del éster, éster de sulfonilo, tioéster, amida o sulfonamida.

De manera adecuada, un grupo acilo en el sustituyente lipófilo forma parte de una amida o éster con el nitrógeno de terminal N, la cadena lateral de aminoácidos o el separador. El sustituyente lipófilo puede incluir una cadena de hidrocarburo que tiene de 10 a 24 átomos de carbono (C), por ejemplo, de 10 a 22 átomos de C, por ejemplo, de 10 a 20 átomos de C. Preferentemente, tiene al menos 11 átomos de C, y preferentemente tiene 18 átomos de C o menos. Por ejemplo, la cadena de hidrocarburos puede contener 12, 13, 14, 15, 16, 17 o 18 átomos de carbono. La cadena de hidrocarburo puede ser lineal o ramificada y puede ser saturada o insaturada.

La cadena de hidrocarburo puede incorporar una fracción de fenileno o piperazinileno en su longitud como, por ejemplo, se muestra a continuación (en el que --- representa los puntos de unión dentro de la cadena). Estos grupos se deben “contar” como 4 átomos de carbono en la longitud de la cadena.



A partir de la discusión anterior, se entenderá que la cadena de hidrocarburo puede estar sustituida con una fracción que forma parte de la unión a la cadena lateral del aminoácido o al separador, por ejemplo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S. Lo más preferentemente, la cadena de hidrocarburo está sustituida con un grupo

acilo y, de acuerdo con lo anterior, la cadena de hidrocarburo puede ser parte de un grupo alcanoílo, por ejemplo, un grupo dodecanoílo, 2-butiloctanoílo, tetradecanoílo, hexadecanoílo, heptadecanoílo, octadecanoílo o eicosanoílo. Alternativamente, los grupos Z^1 se derivan de ácidos α,ω -dicarboxílicos saturados de cadena larga de fórmula $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12-22}-\text{COOH}$,
 5 saturados de cadena larga de fórmula $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12-22}-\text{COOH}$, preferentemente de ácidos α,ω -dicarboxílicos saturados de cadena larga que tienen un número par de átomos de carbono en la cadena alifática.

En otras palabras, Z^1 puede ser A-alquileo $\text{C}_{12-22}(\text{CO})-$, en el que A es H o $-\text{COOH}$, y en el que el alquileo puede ser lineal o ramificado y puede ser
 10 saturado o insaturado, y puede incorporar opcionalmente una fracción de fenileno o piperazinileno en su longitud.

Por ejemplo, Z^1 puede ser:

- Dodecanoílo, es decir, $\text{H}-(\text{CH}_2)_{11}-(\text{CO})-$;
- Tetradecanoílo, es decir, $\text{H}-(\text{CH}_2)_{13}-(\text{CO})-$;
- 15 Hexadecanoílo, es decir, $\text{H}-(\text{CH}_2)_{15}-(\text{CO})-$;
- 13-carboxitridecanoílo, es decir, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12}-(\text{CO})-$;
- 15-carboxipentadecanoílo, es decir, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{14}-(\text{CO})-$;
- 17-carboxiheptadecanoílo, es decir, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{16}-(\text{CO})-$;
- 19-carboxinonadecanoílo, es decir, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-(\text{CO})-$; o
- 20 21-carboxiheneicosanoílo, es decir, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{20}-(\text{CO})-$

El ácido carboxílico, si está presente, se puede reemplazar por un bioisótero, fosfato o sulfonato. Se conocen en la técnica bioisóteros adecuados

para ácidos carboxílicos e incluyen tetrazol, acilsulfomidas, acilhidroxilamina y derivados del ácido escuárico.

Como se mencionó anteriormente, el sustituyente lipófilo Z^1 se puede conjugar con la cadena lateral del aminoácido o con el nitrógeno de terminal N
5 mediante uno o más separadores Z^2 .

Cuando está presente, el separador se une al sustituyente lipófilo y a la cadena lateral del aminoácido o al nitrógeno de terminal N. El separador puede estar unido al sustituyente lipófilo y a la cadena lateral del aminoácido independientemente mediante un éster, un éster de sulfonilo, un tioéster, una
10 amida o una sulfonamida. De acuerdo con lo anterior, puede incluir dos fracciones seleccionadas independientemente entre acilo, sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S. El separador puede consistir en una cadena de hidrocarburo C_{1-10} lineal o más preferentemente una cadena de hidrocarburo C_{1-5} lineal. Adicionalmente, el separador se puede sustituir con
15 uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} amina, alquilo C_{1-6} hidroxí y C alquilo C_{1-6} carboxí.

El separador puede ser, por ejemplo, un residuo de cualquier aminoácido de origen natural o no natural. Por ejemplo, el separador puede ser un residuo de Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg,
20 Gln, Asn, Glu, Asp, γ -Glu, β -Asp, ϵ -Lys, Asp, Ser, Thr, Dapa, Gaba, Aib, β -Ala (es decir, 3-aminopropanoílo, 4-aminobutanoílo, 5-aminopentanoílo, 6-aminohexanoílo, 7-aminoheptanoílo, 8-aminooctanoílo, 9- aminononanoílo, 10-

aminodecanoílo, 8-amino-3,6-dioxaoctanoílo. En ciertas realizaciones, el separador es un residuo de Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, β -Ala (es decir, 3-aminopropanoílo), 4-aminobutanoílo, 8-aminooctanoílo o 8-amino-3,6-dioxaoctanoílo (Peg3), ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico (Peg4) o ácido (piperazina-1-il)-carboxílico. En la presente invención, γ Glu e isoGlu se utilizan indistintamente.

Z^2 es de forma adecuada una secuencia de 1 a 6 residuos de los compuestos seleccionados de γ Glu, β Asp, D, E, K, Orn, S, T, A, β Ala, G, P, V, L, I, Y, Q, N, Dapa, Gaba, o Aib, o una forma D correspondiente de los mismos, 5-aminopentanoílo, 6-aminohexanoílo, 7-aminoheptanoílo, 8-aminooctanoílo, 9-aminononanoílo, y 10-aminodecanoílo. ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (Peg3), ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico (Peg4) o ácido (piperazina-1-il)-carboxílico.

Por ejemplo, Z^2 puede ser, o puede comprender:

- 15 [Glu];
- [Glu][Peg3][Peg3]-;
- [(Piperazina-1-il)-acetilo][Peg3][Peg3];
- [Glu]-G-[Glu];
- [Glu]-K-[Glu];
- 20 [Glu]-KG-[Glu]; o
- [Glu]-G-[Peg3][Glu][Peg3].

Z^2 se une de forma adecuada a cada lado por un ligador de amida. Se pueden utilizar otros ligadores adecuados, con el reemplazo de átomo correspondiente; por ejemplo, se prevén ligadores de sulfinamida, sulfonamida o éster o ligadores amino, éter o tioéter.

- 5 En otras palabras, en algunos aspectos, el grupo lipófilo Φ es Z^1 - o Z^1 - Z^2 -; en el que
- Z^1 es A–alquileno C_{12-22} –(CO)–;
- en el que A es H o –COOH, y en el que el alquileno puede ser lineal o ramificado y puede ser saturado o insaturado, y opcionalmente puede
- 10 incorporar una fracción de fenileno o piperazinileno en su longitud; y
- Z^2 es una secuencia de 1 a 6 de residuos de los compuestos seleccionados de γ -Glu, β Asp, D, E, K, Orn, S, T, A, β -Ala, G, P, V, L, I, Y, Q, N, Dapa, Gaba, o Aib, o una forma D correspondiente de los mismos, 5-aminopentanoílo, 6-aminohexanoílo, 7-aminoheptanoílo, 8-aminooctanoílo, 9-aminononanoílo, y
- 15 10-aminodecanoílo. ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (Peg3), ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico (Peg4) o ácido (piperazina-1-il)-carboxílico, por ejemplo, un ligador seleccionado de
- [Glu],
- [γ Glu][Peg3][Peg3]–;
- 20 [(Piperazina-1-il)-acetilo][Peg3][Peg3];
- [γ Glu]-G-[γ Glu];
- [γ Glu)-K-[γ Glu];

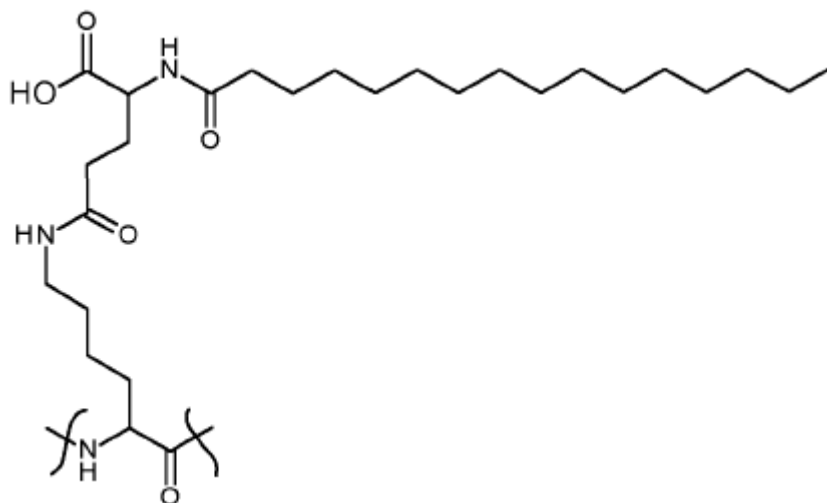
[γ Glu]-KG-[γ Glu]; y

[γ Glu]-G-[Peg3][γ Glu][Peg3].

La cadena lateral de aminoácidos con la que se conjuga el sustituyente lipófilo incluye normalmente un grupo carboxi, hidroxilo, tiol, amida o amina, para formar un éster, un éster de sulfonilo, un tioéster, una amida o una sulfonamida con el separador o sustituyente lipófilo. Se puede preferir particularmente un ligador amida y, por lo tanto, el aminoácido puede ser cualquier aminoácido que tenga un grupo amina en su cadena lateral, aunque estará claro que se contemplan cadenas laterales que tengan otros grupos funcionales. Por lo tanto, la cadena lateral de aminoácidos puede ser una cadena lateral de un residuo Glu, Lys, Ser, Cys, Dbu, Dpr u Orn. Por ejemplo, puede ser una cadena lateral de un residuo Lys, Glu o Cys. Cuando dos o más cadenas laterales portan un sustituyente lipófilo, se pueden seleccionar independientemente de esos residuos.

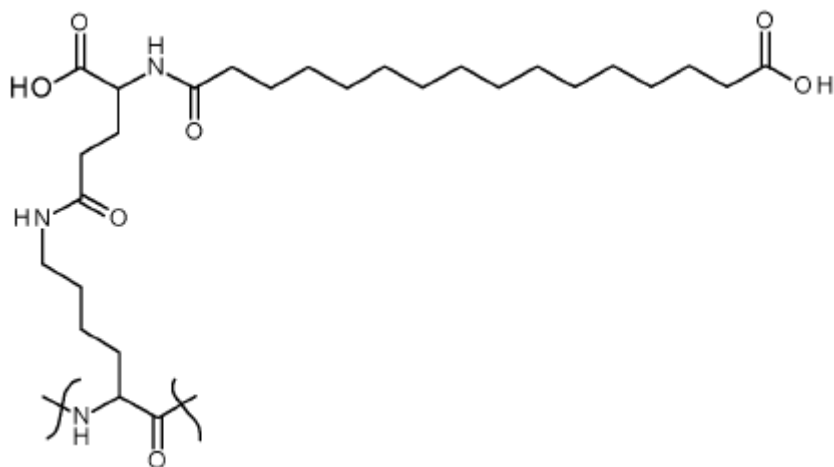
Normalmente, la cadena lateral de aminoácidos es una cadena lateral de un residuo Lys.

Un ejemplo de un sustituyente lipófilo que comprende una fracción lipófila Z^1 y un separador Z^2 se muestra en la siguiente fórmula:



En la presente memoria, la cadena lateral de un residuo de Lys se une covalentemente a un separador γ Glu (Z^2) a través de un ligador amida. Un grupo hexadecanoílo (Z^1) se une covalentemente al separador γ Glu mediante un enlace amida. Esta combinación de la fracción lipófila y separador, conjugado con un residuo de Lys, se puede denominar mediante la notación abreviada K (Hexadecanoil- γ Glu), por ejemplo, cuando se muestra en fórmulas de compuestos específicos. γ Glu también se puede denominar isoGlu, y un grupo hexadecanoílo como grupo palmitoilo. Por lo tanto, será evidente que la notación (Hexadecanoil- γ Glu) es equivalente a las notaciones (isoGlu (Palm)) o (isoGlu (Palmitoilo)) como se utiliza, por ejemplo, en el documento PCT/GB2008/004121.

Los grupos Z^1 alternativos se derivan de ácidos α,ω -dicarboxílicos saturados de cadena larga de fórmula $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{12-22}-\text{COOH}$ como se ejemplifica a continuación.



En la presente memoria, la cadena lateral de un residuo de Lys se une covalentemente a un separador γ Glu (Z^2) mediante un ligador amida. Un grupo 15-carboxipentadecanoilo (Z^1) se une covalentemente al separador γ Glu mediante un enlace amida. Esta combinación de fracción lipófila y separador, conjugado con un residuo de Lys, se puede denominar mediante la notación

5

abreviada K (15-carboxipentadecanoilo - γ -Glu), por ejemplo, cuando se muestra en fórmulas de compuestos específicos. γ Glu también se puede denominar isoGlu.

10 Ciertos grupos Φ preferidos (Z^1 - y Z^1 - Z^2 -) incluyen:

[15-Carboxi-pentadecanoil];

[15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu],

[15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu][Peg3][Peg3];

[19-carboxi-nonadecanoil][γ Glu][Peg3][Peg3];

15 [15-carboxi-pentadecanoil][(Piperazina-1-il)-acetilo][Peg3][Peg3];

[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu];

[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]K[γ Glu];

[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]KG[γ Glu];

[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[Peg3][γ Glu][Peg3];

[15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu]G[γ Glu];

5 [17-carboxi-heptadecanoil];

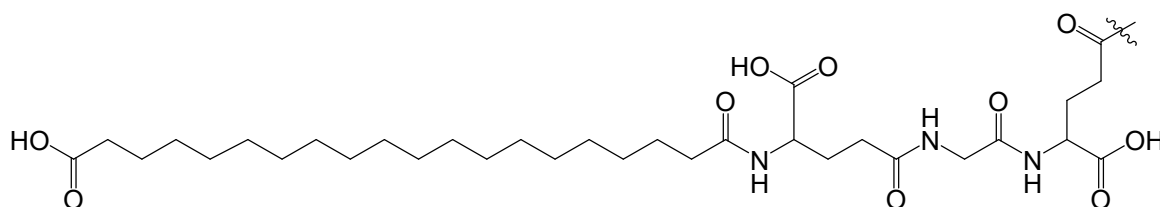
[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]

[19-carboxi-nonadecanoil][γ Glu]G[γ Glu];y

[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu][Peg3][Peg3].

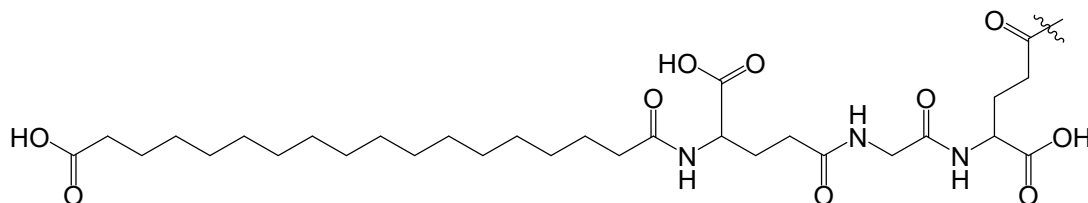
Las estructuras ilustrativas de los grupos Φ (Z^1 - y Z^1 - Z^2 -) se muestran a
 10 continuación, en las que la línea ondulada indica el ligador para el péptido (a
 una cadena lateral de aminoácidos, nitrógeno de terminal N o carbono de
 terminal C):

[19-carboxi-nonadecanoil][γ Glu]G[γ Glu]:

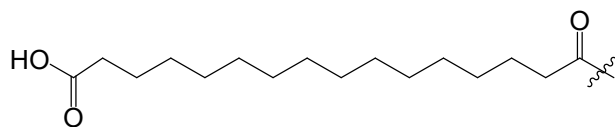


15

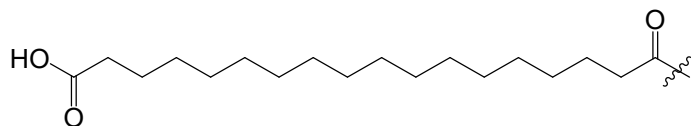
[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu]:



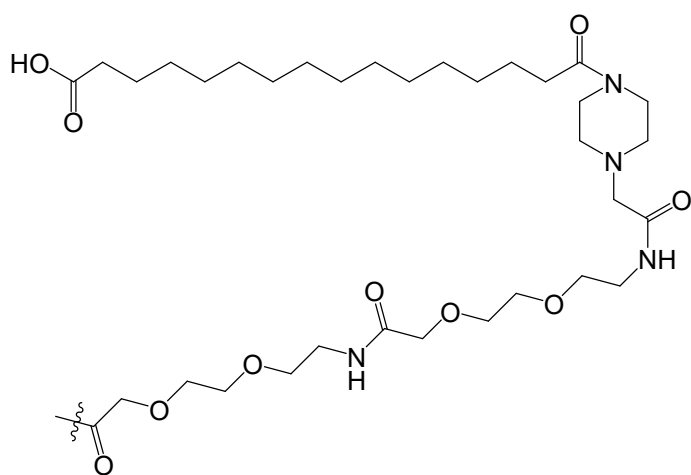
[15-carboxi-pentadecanoil]-:



[17-carboxi-heptadecanoil]-:

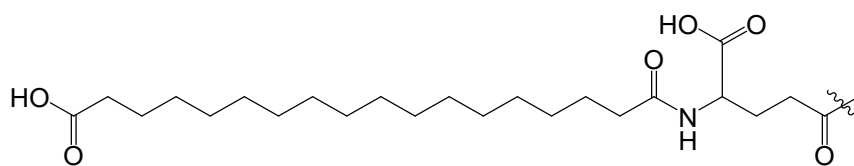


[(15-carboxi-pentadecanoil)-[(Piperazina-1-il)-acetilo][Peg3][Peg3]:

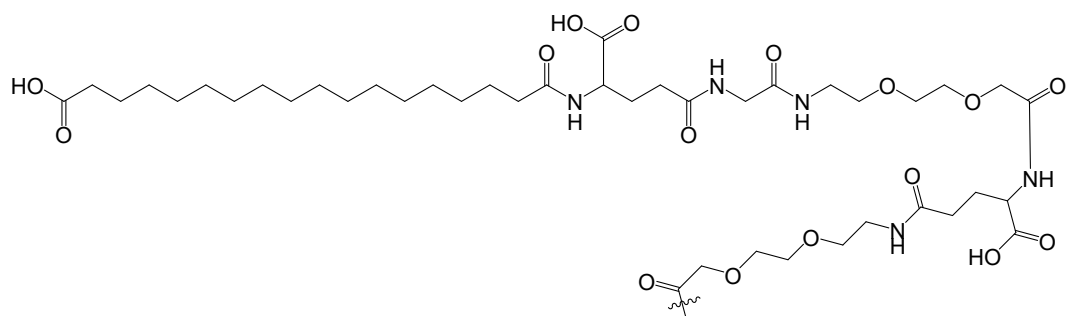


5

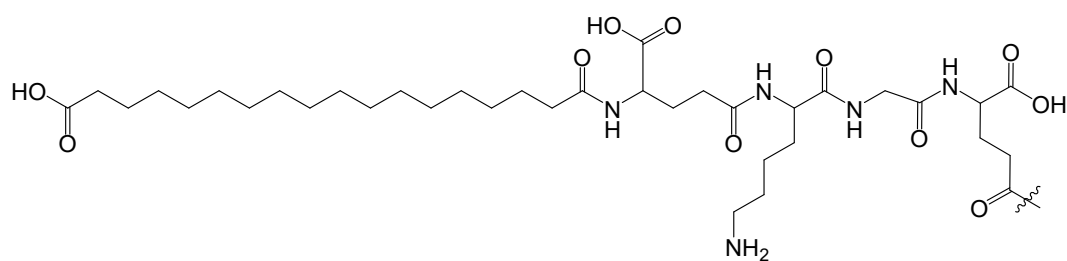
[17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]:



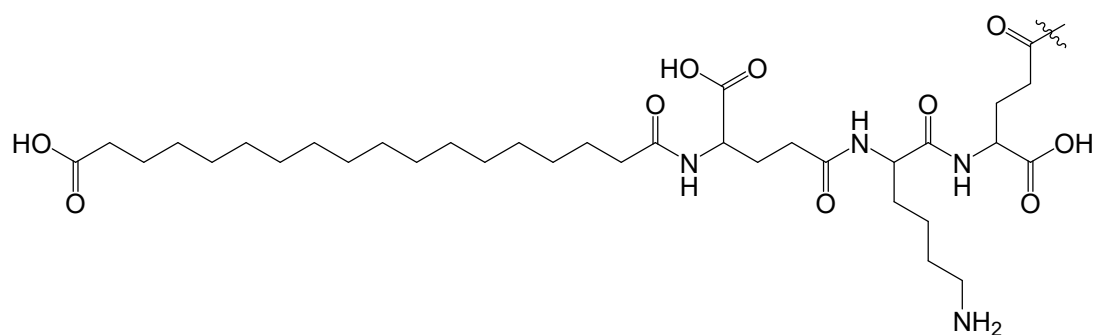
[17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3]:



[17-carboxi-heptadecanoyl][γGlu]KG[γGlu]:

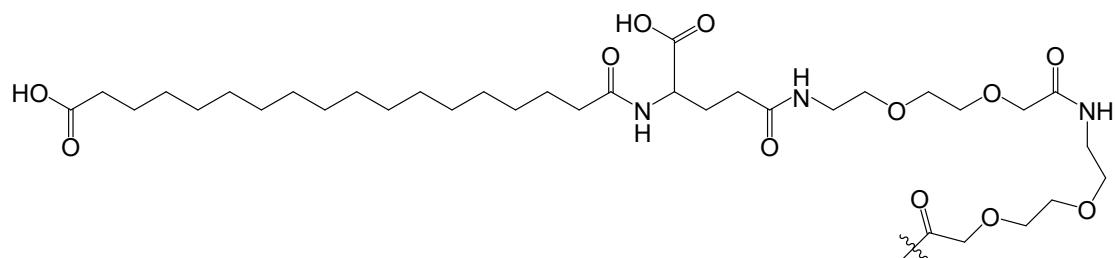


[17-carboxi-heptadecanoyl][γGlu]K[γGlu]:



5

[17-carboxi-heptadecanoyl][γGlu][Peg3][Peg3]:



El experto en la materia conocerá las técnicas adecuadas para preparar los compuestos empleados en el contexto de la invención. Para ejemplos de química adecuada, véanse los documentos WO98/08871, WO00/55184, WO00/55119, Madsen et al., J. Med. Chem. 50: 6126 - 32 (2007), y Knudsen et al., J. Med Chem. 43: 1664-1669 (2000), incorporados en la presente memoria como referencia.

En algunas realizaciones, el análogo de compstatina tiene un grupo lipófilo Φ como se describió anteriormente conjugado con un aminoácido en una o más de las posiciones correspondientes a las posiciones 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 13 de la secuencia de tipo compstatina, es decir, posiciones X1-X13.

En ciertas realizaciones, el análogo de compstatina tiene un sustituyente lipófilo como se describió anteriormente conjugado a un aminoácido en una o más de las posiciones correspondientes a las posiciones X1, X11 o X13, o a un aminoácido dentro de R1 o R2, o en el terminal N. como grupo Y1.

Para la acilación o lipidación de terminal C de los péptidos, se han desarrollado estrategias de conjugación bien establecidas. Por ejemplo, dicha conjugación se podría realizar mediante química de clic (es decir, la reacción de conjugación de azida-alquino biortogonal catalizada por Cu(I)) o mediante otras estrategias de conjugación conocidas por el experto en la técnica de la química de péptidos.

El análogo de compstatina puede comprender una de las siguientes secuencias:

- IC(1)IWQDWGAHRC(1)T
- IC(1)IWQDWGEHRC(1)T
- 5 ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)T
- IC(1)I[1MeTrp]QDWGEHRC(1)T
- IC(1)IWQDWGKHRC(1)T
- IC(1)IWQDWGSHRC(1)T
- IC(1)IWQKWGEHRC(1)T
- 10 IC(1)IWQKWGAHRC(1)TGAES
- YC(1)IWQDWGEHRC(1)T
- ESSAYC(1)IWQDWGEHRC(1)T
- [Sar]C(1)IWQDWGEHRC(1)T
- IC(1)IWQDWGAHRC(1)E
- 15 IC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]
- ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES
- IC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES
- IC(1)IWQEWGEHRC(1)T
- IC(1)IWQDWGDHRC(1)T
- 20 IC(1)IWQDWGRHRC(1)T
- IC(1)IWQDWGAHSC(1)T
- IC(1)IWQDWGEHSC(1)T

IC(1)IWQDWGEHRC(1)S
IC(1)IWQDWGEHRC(1)E
FC(1)IWQDWGEHRC(1)T
IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE
5 IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEA
IC(1)IWQDWGEHRC(1)TE
IC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE
EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E
EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)T
10 EGEIC(1)IWQDWGEHRC(1)T
ESEIC(1)IWQDWGEHRC(1)T
SEIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEA
EIC(1)IWQDWGEHRC(1)TE
EIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE
15 EGEIC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE
ESEIC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE
KEKIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEKE
EKGIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEKP
IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGK
20 GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E
SAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E
SAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG

- FC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAE
 EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]EGE
 EGSAFC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E
 ESSAIC(1)IWQDWGAHRC(1)T
- 5 IC(1)IWQDWGAHRC(1)TGAES
 {d}YIC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]AHRC(1)-[N-Me-Ile]
 EGSAIC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E
 EGSAIC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)[Sar]E
 IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES
- 10 IC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES
 EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E
 EGSAIC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E
 EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TE
 EGSAFC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)TE
- 15 EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TE
 EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE
 EGSAIC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TE
 EGSAFC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TE
 FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES
- 20 YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES
 FC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES
 FC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES

- YC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES
- YC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES
- YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEAGS
- 5 YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TESGA
- EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]E
- SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA
- FC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TGAES
- {d}YFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TGAES
- 10 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]GAES
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]EA
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TEA
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E
- 15 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E
- EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA
- SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA
- SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EA
- 20 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)SEA
- EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)ES
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA

GEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA

GE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA

SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)TEA

SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EA

5 {d}Y[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA

Por ejemplo, el análogo de compstatina puede ser:

Ac-IC(1)IWQDWGAHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 1)

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 2)

10 Ac-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 3)

Ac-IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 4)

Ac-IC(1)IWQDWGKHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 5)

Ac-IC(1)IWQDWGSHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 6)

Ac-IC(1)IWQKWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 7)

15 Ac-IC(1)IWQKWGAHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 8)

Ac-YC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 9)

Ac-ESSAYC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 10)

Ac-[Sar]C(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 11)

Ac-IC(1)IWQDWGAHRC(1)E-NH₂ (Compuesto 12)

20 Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]-NH₂ (Compuesto 13)

Ac-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 14)

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 15)

- Ac-IC(1)IWQEWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 16)
- Ac-IC(1)IWQDWGDHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 17)
- Ac-IC(1)IWQDWGRHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 18)
- Ac-IC(1)IWQDWGAHSC(1)T-NH₂ (Compuesto 19)
- 5 Ac-IC(1)IWQDWGEHSC(1)T-NH₂ (Compuesto 20)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)S-NH₂ (Compuesto 21)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)E-NH₂ (Compuesto 22)
- Ac-FC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 23)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂ (Compuesto 24)
- 10 Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 25)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 26)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE-NH₂ (Compuesto 27)
- Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 28)
- Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 29)
- 15 Ac-EGEIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 30)
- Ac-ESEIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 31)
- Ac-SEIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 32)
- Ac-EIC(1)IWQDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 33)
- Ac-EIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂ (Compuesto 34)
- 20 Ac-EGEIC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE-NH₂ (Compuesto 35)
- Ac-ESEIC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE-NH₂ (Compuesto 36)
- Ac-KEKIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEKE-NH₂ (Compuesto 37)

- Ac-EKGIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEKP-NH₂ (Compuesto 38)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGK-NH₂ (Compuesto 39)
- Ac-GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 40)
- Ac-SAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 41)
- 5 Ac-SAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-NH₂ (Compuesto 42)
- Ac-FC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAE-NH₂ (Compuesto 43)
- Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]EGE-NH₂ (Compuesto 44)
- Ac-EGSAFC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 45)
- Ac-ESSAIC(1)IWQDWGAHRC(1)T-NH₂ (Compuesto 46)
- 10 Ac-IC(1)IWQDWGAHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 47)
- H-{d}YIC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]AHRC(1)[N-Me-Ile]-NH₂ (Compuesto 48)
- Ac-EGSAIC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 49)
- Ac-EGSAIC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 50)
- Ac-IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 51)
- 15 Ac-IC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 52)
- Ac-EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 53)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 54)
- Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 55)
- Ac-EGSAFC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 56)
- 20 Ac-EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 57)
- Ac-EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE-NH₂ (Compuesto 58)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 59)

- Ac-EGSAFC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TE-NH₂ (Compuesto 60)
- Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 61)
- Ac-YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 62)
- Ac-FC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 63)
- 5 Ac-FC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 64)
- Ac-YC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 65)
- Ac-YC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 66)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 67)
- Ac-YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEAGS-NH₂ (Compuesto 68)
- 10 Ac-YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TESGA-NH₂ (Compuesto 69)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 70)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 71)
- Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 72)
- H-{d}YFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TGAES-NH₂ (Compuesto 73)
- 15 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]GAES-NH₂ (Compuesto 74)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 75)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 76)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 77)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 78)
- 20 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 79)
- Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 80)
- Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 81)

- Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 82)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 83)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)SEA-NH₂ (Compuesto 84)
- Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)ES-NH₂ (Compuesto 85)
- 5 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 86)
- Ac-GEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 87)
- Ac-GE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 88)
- Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 89)
- Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EA-NH₂ (Compuesto 90)
- 10 H-{d}Y[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA-NH₂ (Compuesto 91)

Alternativamente, el análogo de compstatina puede comprender una de las siguientes secuencias:

- [K*]GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE (Compuesto 100)
- ASGEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[K*] (Compuesto 113)
- 15 EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE-[K*] (Compuesto 134)
- EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG[K*] (Compuesto 101)
- EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEH[K*]C(1)[Sar]E (Compuesto 103)
- EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EG-[K*] (Compuesto 104)
- EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[K*] (Compuesto 109)
- 20 EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGK-[K*] (Compuesto 110)
- EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]-[K*] (Compuesto 111)
- FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-[K*] (Compuesto 102)

- IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-[K*] (Compuesto 92)
- IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-[K*] (Compuesto 94)
- SAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-[K*] (Compuesto 105)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*] (Compuesto 119)
- 5 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 123)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGEGGG-[K*] (Compuesto 129)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]-[K*] (Compuesto 138)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]ES-[K*] (Compuesto 140)
- 10 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 127)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGESES-[K*] (Compuesto 139)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]GGG-[K*] (Compuesto 132)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[8-aminooctanoil]-[K*] (Compuesto 136)
- 15 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[8-aminooctanoil]E-[K*] (Compuesto 137)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGEGGG-[K*] (Compuesto 130)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[Peg3]ES-[K*] (Compuesto 142)
- 20 SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 126)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEK[γGlu]GGG-[K*] (Compuesto 133)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-[K*] (Compuesto 135)

- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*] (Compuesto 120)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 124)
- SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*] (Compuesto 112)
- 5 SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 117)
- SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[K*] (Compuesto 114)
- SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)[Sar]EK[γGlu]A-[K*] (Compuesto 121)
- SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*] (Compuesto 122)
- 10 SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 125)
- EGSEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E (Compuesto 107)
- ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE (Compuesto 99)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3][Peg3]-[K*]
- 15 (Compuesto 143)
- SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 144)
- EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA[Peg3][Peg3]-[K*] (Compuesto 145)

Por ejemplo, el análogo de compstatina puede comprender una de las

20 siguientes secuencias:

Ac-[K*]GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂ (Compuesto 100)

- Ac-ASGEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[K*]-NH₂ (Compuesto 113)
- Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE-[K*]-NH₂ (Compuesto 134)
- Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-[K*]-NH₂ (Compuesto 101)
- 5 Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEH[K*]C(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 103)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EG-[K*]-NH₂ (Compuesto 104)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[K*]-NH₂ (Compuesto 109)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGK-[K*]-NH₂ (Compuesto 110)
- 10 Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]-[K*]-NH₂ (Compuesto 111)
- Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-[K*]-NH₂ (Compuesto 102)
- Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-[K*]-NH₂ (Compuesto 92, 93, 95, 96, 98)
- 15 Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-[K*]-NH₂ (Compuesto 94, 97)
- Ac-SAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-[K*]-NH₂ (Compuesto 105, 106)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*]-NH₂ (Compuesto 119)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂ (Compuesto 123)
- 20 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGEGGG-[K*]-NH₂ (Compuesto 129)

- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]-[K*]-NH₂ (Compuesto 138)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]ES-[K*]-NH₂
(Compuesto 140)
- 5 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
(Compuesto 127, 128)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGESES-[K*]-NH₂ (Compuesto 139, 141)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]GGG-[K*]-NH₂
10 (Compuesto 132)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[8-aminooctanoil]-[K*]-NH₂
(Compuesto 136)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[8-aminooctanoil]E-[K*]-NH₂
(Compuesto 137)
- 15 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGEGGG-[K*]-NH₂ (Compuesto 130, 131)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE-[Peg3]ES-[K*]-NH₂ (Compuesto 142)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE-[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
20 (Compuesto 126)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEK[γGlu]GGG-[K*]-NH₂ (Compuesto 133)

- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-[K*]-NH₂ (Compuesto 135)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*]-NH₂ (Compuesto 120)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
(Compuesto 124)
- 5 Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*]-NH₂ (Compuesto 112,
118)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
(Compuesto 117)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[K*]-NH₂ (Compuesto 114,
10 115, 116)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)[Sar]EK[γGlu]A-[K*]-NH₂
(Compuesto 121)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-[K*]-NH₂ (Compuesto 122)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
15 (Compuesto 125)
- Φ-EGSEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 107, 108)
- Φ-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂ (Compuesto 99)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
(Compuesto 143)
- 20 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂
(Compuesto 144)

Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA[Peg3][Peg3]-[K*]-NH₂

(Compuesto 145)

Por ejemplo, el análogo de compstatina puede ser:

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu])-NH₂

5 (Compuesto 92)

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 93)

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 94)

10 Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K((15-carboxi-pentadecanoil)-[(Piperazina-1-il)-acetilo][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 95)

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 96)

15 Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 97)

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([19-carboxi-nonadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 98)

[15-Carboxi-pentadecanoil]-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂
(Compuesto 99)

20 Ac-[K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])]-GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂ (Compuesto 100)

- Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu])-NH₂ (Compuesto 101)
- Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-K([15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 102)
- 5 Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEH-K([15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu][Peg3][Peg3])-C(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 103)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γ Glu][Peg3][Peg3])-NH₂ (Compuesto 104)
- Ac-SAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]KG[γ Glu])-NH₂ (Compuesto 105)
- 10 Ac-SAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH₂ (Compuesto 106)
- [15-Carboxi-pentadecanoil]-EGSEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 107)
- 15 [17-Carboxi-heptadecanoil]-EGSEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH₂ (Compuesto 108)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH₂ (Compuesto 109)
- Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGK-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH₂ (Compuesto 110)
- 20 Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK([γ Glu]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu](peg3)(peg3))-NH₂ (Compuesto 111)

- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil])[γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 112)
- Ac-ASGEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil])[γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 113)
- 5 Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil])[γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 114)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGK-K([17-carboxi-heptadecanoil])[γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 115)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-
- 10 heptadecanoil])[γGlu]-K[γGlu])-NH₂ (Compuesto 116)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil])[γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 117)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3])-NH₂ (Compuesto 118)
- 15 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3])-NH₂ (Compuesto 119)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3])-NH₂ (Compuesto 120)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)[Sar]EK[γGlu]A-K([17-carboxi-
- 20 heptadecanoil]-[γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3])-NH₂ (Compuesto 121)
- Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3])-NH₂ (Compuesto 122)

- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 123)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 124)
- 5 Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 125)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 126)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]-EGE-[Peg3][Peg3]-K([15-carboxi-
- 10 pentadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 127)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([19-carboxi-nonadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 128)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGEGGG-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 129)
- 15 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGEGGG-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 130)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]-QDWGEHRC(1)TEGEGGG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 131)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]-QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]GGG-K([17-carboxi-
- 20 heptadecanoil][γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 132)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEK[γGlu]GGG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 133)

- Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 134)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-K([15-carboxi-hexadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 135)
- 5 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[8-aminooctanoil]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]-G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 136)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[8-aminooctanoil]E-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 137)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]-K([17-carboxi-
- 10 heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 138)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGESES-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 139)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]ES-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 140)
- 15 Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGESES-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu])-NH₂ (Compuesto 141)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[Peg3]ES-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu])-NH₂ (Compuesto 142)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHR[C(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3][Peg3]-K([17-
- 20 carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 143)
- Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 144)

Ac-EF[C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH₂ (Compuesto 145).

Se ha mostrado que los análogos de compstatina fabricados en la técnica anterior poseen una actividad mejorada en comparación con el péptido original, es decir, hasta aproximadamente 99 veces (Mallik, B. et al, 2005, supra; WO 2004/026328), y hasta aproximadamente 264 veces (Katragadda et al., 2006, supra; WO2007/062249).

De acuerdo con la presente invención, se ha empleado información sobre las características biológicas y fisicoquímicas de la unión de Ac-compstatina a C3 para diseñar análogos de compstatina con actividad significativamente mejorada en comparación con los análogos de compstatina originales.

Preferentemente, los análogos de compstatina tienen mayor actividad que Ac-compstatina, por ejemplo, al menos 10 veces mayor actividad, al menos 20 veces mayor actividad, al menos 30 veces mayor actividad que Ac-compstatina. En otras realizaciones, los análogos tienen al menos 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 veces o más actividad que Ac-compstatina, en comparación utilizando los ensayos descritos en los ejemplos.

Un compuesto de la invención normalmente tiene mayor actividad que un compuesto de otra forma idéntico que tiene valina en lugar de isoleucina en la posición que corresponde a Val3 de compstatina.

Los análogos de compstatina son capaces de unirse a C3 y/o C3b, y de inhibir la activación de la cascada del complemento, particularmente cadena abajo de C3, por ejemplo, al inhibir la división de C3 por convertasas C3.

Los análogos de compstatina también son normalmente capaces de
5 inhibir la hemólisis impulsada por el complemento. La hemólisis impulsada por el complemento se evalúa normalmente (en un “ensayo de hemólisis”) al poner en contacto el suero de una primera especie de mamífero (por ejemplo, suero humano) con eritrocitos (glóbulos rojos, RBC) de una segunda especie de mamífero (por ejemplo, ovejas o cualquier otra especie adecuada),
10 normalmente en presencia de inmunoglobulina de mamífero capaz de unirse a los eritrocitos. El complemento en el suero es activado por la inmunoglobulina unida a las células, lo que lleva a la lisis de los eritrocitos, es decir, a la hemólisis. La inmunoglobulina puede ser de la primera especie o puede ser de una tercera especie de mamífero siempre que sea capaz de activar el
15 complemento de la primera especie.

En dicho ensayo, un compuesto de prueba se incubará previamente normalmente con el suero antes de que el suero entre en contacto con los eritrocitos. Los eritrocitos también se pueden incubar previamente con la inmunoglobulina antes de entrar en contacto con el suero.

20 En los ejemplos siguientes, el suero humano se incubó previamente con un compuesto de prueba, y los eritrocitos de oveja se incubaron previamente

con antisero de conejo contra eritrocitos de oveja, antes de que se combinaran el suero y los eritrocitos.

Por lo tanto, la actividad de los análogos de compstatina se puede determinar con referencia a una o más actividades biológicas seleccionadas de
5 (1) unión a proteína C3, (2) unión a proteína C3b, (3) inhibición de la división de C3 nativo por convertasas C3, e (4) inhibición de la activación del sistema del complemento.

Por lo tanto, un análogo de compstatina de la invención se puede unir a C3 o C3b con una afinidad mayor que la de la compstatina. Por ejemplo,
10 pueden tener una Kd al menos 10 veces menor, al menos 20 veces menor o al menos 30 veces menor que la Ac-compstatina, por ejemplo, al menos 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 o 150 veces menor que Ac-compstatina. La Kd se puede determinar mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR), por ejemplo, utilizando un ensayo como se describe en el Ejemplo 4.

15 Un análogo de compstatina de la invención se une normalmente a C3 o C3b con una mayor afinidad (es decir, una Kd más baja) que la de un compuesto de otra forma idéntico que tiene valina en lugar de isoleucina en la posición que corresponde a Val3 de compstatina.

Un análogo de compstatina de la invención puede tener una mayor
20 capacidad para inhibir la hemólisis que la Ac-compstatina. Por ejemplo, se puede inhibir la hemólisis con un IC₅₀, al menos 10 veces, al menos 20 veces, o al menos 30 veces menor que Ac-compstatina, por ejemplo, al menos 40, 50,

60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 veces más bajo que Ac-compstatina.

Un análogo de compstatina de la invención tiene normalmente una capacidad mayor para inhibir la hemólisis (es decir, un IC_{50} inferior) que un
5 compuesto de otra forma idéntico que tiene valina en lugar de isoleucina en la posición que corresponde a Val3 de la compstatina.

Preferentemente, el efecto *in vitro* de los compuestos de la presente invención se evalúa al medir su efecto inhibitor sobre la ruta clásica del complemento en un ensayo de hemólisis, por ejemplo, utilizando el ensayo
10 descrito en el Ejemplo 2.

Los análogos de compstatina que tienen acilación pueden tener una actividad absoluta más baja que un compuesto de otra forma idéntico que carece de acilación, pero tienen beneficios adicionales que incluyen una vida media prolongada *in vivo* que puede compensar cualquier reducción aparente
15 de la actividad absoluta.

Síntesis de análogos de compstatina

Se prefiere sintetizar análogos de compstatina de la presente invención por medio de una metodología de síntesis de péptidos en fase sólida o en fase líquida. En este contexto, se puede hacer referencia al documento WO
20 98/11125 y, entre muchos otros, a Fields, G.B. et al., 2002, "Principles and practice of solid-phase peptide synthesis". In: Synthetic Peptides (2ª edición) y los ejemplos de la presente memoria.

De acuerdo con la presente invención, un análogo de compstatina de la invención se puede sintetizar o producir de varias formas, que incluyen, por ejemplo, un procedimiento que comprende:

(a) sintetizar los análogos de compstatina por medio de una metodología de síntesis de péptidos en fase sólida o en fase líquida y recuperar los análogos de compstatina sintetizados obtenidos de esta manera; o

(b) expresar una secuencia de péptidos precursora a partir de una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido precursor, recuperar el producto de expresión y modificar el péptido precursor para producir un compuesto de la invención.

El péptido precursor se puede modificar mediante la introducción de uno o más aminoácidos no proteinogénicos, por ejemplo, Aib, Orn, Dap, 1-Me-Trp, 1-Nal, 2-Nal, Sar, γ Glu o Dab, o mediante la introducción de uno de los grupos terminales apropiados Y1 y/o Y2.

La expresión se realiza normalmente a partir de un ácido nucleico que codifica el péptido precursor, que se puede realizar en una célula o en un sistema de expresión libre de células que comprende dicho ácido nucleico.

Se prefiere sintetizar los análogos de la invención mediante síntesis de péptidos en fase sólida o en fase líquida. En este contexto, se hace referencia al documento WO 98/11125 y, entre muchos otros, a Fields, GB et al., 2002, "Principles and practice of solid-phase peptide synthesis". In: Synthetic Peptides (2ª edición) y los ejemplos de la presente memoria.

Para la expresión recombinante, los fragmentos de ácido nucleico que codifican el péptido precursor normalmente se insertarán en vectores adecuados para formar vectores de clonación o expresión. Los vectores pueden, dependiendo del propósito y el tipo de aplicación, estar en forma de plásmidos, fagos, cósmidos, minicromosomas o virus, pero también el ADN sin cubierta que solo se expresa transitoriamente en ciertas células es un vector importante. Los vectores de clonación y expresión preferidos (vectores plasmídicos) son capaces de replicación autónoma, lo que permite un elevado número de copias para los propósitos de expresión de alto nivel o replicación de alto nivel para la clonación posterior.

En líneas generales, un vector de expresión comprende las siguientes características en la dirección 5'→3' y en el ligador operable: un promotor para conducir la expresión del fragmento de ácido nucleico, opcionalmente una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un péptido líder que permite la secreción (a la fase extracelular o, cuando sea aplicable, en el periplasma), el fragmento de ácido nucleico que codifica el péptido precursor y, opcionalmente, una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un terminador. Pueden comprender características adicionales tales como marcadores seleccionables y orígenes de replicación. Cuando se opera con vectores de expresión en cepas productoras o estirpes celulares, se puede preferir que el vector sea capaz de integrarse en el genoma de la célula anfitriona. El experto está muy

familiarizado con los vectores adecuados y puede diseñar uno de acuerdo con sus requisitos específicos.

Los vectores de la invención se utilizan para transformar células anfitrionas para producir el péptido precursor. Dichas células transformadas
5 pueden ser células cultivadas o estirpes celulares utilizadas para la propagación de los fragmentos y vectores de ácido nucleico, y/o utilizadas para la producción recombinante de los péptidos precursores.

Las células transformadas preferidas son microorganismos tales como bacterias [tales como la especie *Escherichia* (por ejemplo, *E. coli*), *Bacillus* (por
10 ejemplo, *Bacillus subtilis*), *Salmonella* o *Mycobacterium* (preferentemente no patógenas, por ejemplo, *M. bovis* BCG), levaduras (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*) y protozoos. Alternativamente, las células transformadas se pueden derivar de un organismo multicelular, es decir, puede ser una célula fúngica, una célula de insecto, una célula de algas,
15 una célula vegetal o una célula animal tal como una célula de mamífero. Para los propósitos de clonación y/o expresión optimizada, se prefiere que la célula transformada sea capaz de replicar el fragmento de ácido nucleico de la invención. Las células que expresan el fragmento nucleico se pueden utilizar para la preparación a pequeña o gran escala de los péptidos de la invención.

20 Cuando se produce el péptido precursor mediante células transformadas, es conveniente, aunque lejos de ser esencial, que el producto de expresión se secrete al medio de cultivo.

Afecciones médicas

En un aspecto amplio, la presente invención proporciona análogos de compstatina de la presente invención para uso como medicamento o para uso en terapia.

5 Los análogos de compstatina descritos en la presente memoria tienen actividades biológicas de unión a la proteína C3 y/o inhiben la activación del complemento. Generalmente, los análogos de compstatina de la presente invención se pueden utilizar para el tratamiento o prevención de las afecciones asociadas con la activación excesiva o no deseada del sistema del
10 complemento. El complemento se puede activar a través de tres rutas diferentes: la clásica, la lectina y la alternativa. El principal evento de activación que comparten las tres rutas es la división proteolítica de la proteína central del sistema del complemento, C3, en sus productos de activación C3a y C3b por las convertasas C3. La generación de estos fragmentos conduce a la
15 opsonización de las células patógenas por C3b e iC3b, un proceso que las hace susceptibles a la fagocitosis o depuración, y a la activación de las células inmunitarias a través de una interacción con los receptores del complemento (Markiewski & Lambris, 2007, Am. J Pathol., 171: 715 - 727). El depósito de C3b en las células diana también induce la formación de nuevos complejos
20 convertasa y, por lo tanto, inicia un bucle de autoamplificación. Un conjunto de proteínas plasmáticas y unidas a la superficie celular regula cuidadosamente la activación del complemento para evitar que las células anfitrionas se

autoataquen por la cascada del complemento. El tridecapéptido cíclico de 13 aminoácidos utilizado como punto de referencia para el diseño de los análogos de compstatina de la presente invención inhibe la activación del complemento al unirse a C3 y/o C3b, evitando la división del C3 nativo por las convertasas C3. Sin desear estar limitados por ninguna teoría en particular, los presentes inventores consideran que los análogos de compstatina de la presente invención también funcionan de esta manera y pueden compartir una o más actividades biológicas seleccionadas de (1) unión a proteína C3, (2) unión a proteína C3b, (3) inhibición de la división de C3 nativo por convertasas C3 y/o (4) inhibición de la activación del sistema del complemento. La actividad biológica de los análogos de compstatina de la presente invención se puede determinar *in vitro* al medir su efecto inhibitorio de la ruta clásica del complemento en un ensayo de hemólisis, por ejemplo, utilizando un protocolo establecido en los ejemplos a continuación.

La activación excesiva o la regulación inadecuada del complemento pueden conducir a una serie de afecciones patológicas, que van desde enfermedades autoinmunitarias hasta enfermedades inflamatorias (Holers, 2003, Clin. Immunol., 107: 140-51; Markiewski & Lambris, 2007, supra; Ricklin & Lambris, 2007, Nat. Biotechnol., 25: 1265-75; Sahu et al., 2000, J. Immunol., 165: 2491-9). Estas condiciones incluyen: (1) inhibir la activación del complemento para facilitar tratamiento de enfermedades o afecciones que incluyen degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad de

Stargardt, periodontitis, retinopatía diabética, glaucoma, uveítis, artritis reumatoide, lesión de la médula espinal, apoplejía, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cáncer, y trastornos respiratorios tales como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), inflamación alérgica, enfisema, bronquitis, bronquiectasias, fibrosis quística, tuberculosis, neumonía, síndrome de dificultad respiratoria (RDS - neonatal y adulto), rinitis y sinusitis; infecciones bacterianas tales como septicemia, lesión por isquemia-reperfusión en varios tejidos., infarto de miocardio, anafilaxia, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemias hemolíticas autoinmunitarias, soriasis, hidradenitis supurativa, miastenia gravis, lupus eritematoso sistémico, síndrome de CHAPLE, glomerulopatía C3, nefropatía por IgA, síndrome urémico hemolítico atípico, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome antifosfolípido, o (2) inhibir la activación del complemento que ocurre durante el trasplante de células u órganos sólidos, o en el uso de órganos o implantes artificiales (por ejemplo, al recubrir o tratar de otra manera las células, órganos, órganos artificiales o implantes con un péptido de la invención); o (3) inhibir la activación del complemento que se produce durante la derivación extracorpórea de fluidos fisiológicos (sangre, orina) (por ejemplo, al recubrir el tubo a través del cual se derivan los fluidos con un análogo de compstatina de la presente invención).

Composiciones farmacéuticas y administración

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición que comprende un análogo de compstatina de acuerdo con la invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un portador. En una realización de la invención, la composición es una
5 composición farmacéutica y el portador es un portador farmacéuticamente aceptable. La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un análogo de compstatina de acuerdo con la invención, o una sal y/o solvato del mismo, junto con un portador, excipiente o vehículo. De acuerdo con lo anterior, el análogo de compstatina de la presente
10 invención, o sales o solvatos del mismo, especialmente sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, se pueden formular como composiciones o composiciones farmacéuticas preparadas para almacenamiento o administración, y que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de compstatina de la presente
15 invención, o una sal o solvato del mismo.

Las sales adecuadas formadas con bases incluyen sales metálicas, tales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos.

En una realización, una composición farmacéutica de la invención es una en la que el análogo de compstatina está en forma de una sal de adición
20 de ácido farmacéuticamente aceptable.

Como resultará evidente para un experto en la técnica médica, una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto de análogo de

compstatina o composición farmacéutica del mismo de la presente invención variará dependiendo de, entre otras cosas, la edad, el peso y/o el sexo del sujeto (paciente) a ser tratado. Otros factores que pueden ser de relevancia incluyen las características físicas del paciente específico bajo consideración,

5 la dieta del paciente, la naturaleza de cualquier medicación concurrente, los compuestos particulares empleados, el modo particular de administración, el efecto farmacológico deseado y la indicación terapéutica particular. Debido a que estos factores y su relación para determinar esta cantidad son bien conocidos en la técnica médica, la determinación de niveles de dosificación

10 terapéuticamente efectivos, la cantidad necesaria para lograr el resultado deseado de tratar y/o evitar y/o remediar la mala absorción y/o inflamación de grado bajo descrita en la presente memoria, así como otras indicaciones médicas divulgadas en la presente memoria, estarán dentro del ámbito del experto.

15 Como se utiliza en la presente memoria, el término “una cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad que reduce los síntomas de una afección o patología dada, y preferentemente que normaliza las respuestas fisiológicas en un individuo con esa afección o patología. La reducción de los síntomas o la normalización de las respuestas fisiológicas se puede determinar

20 utilizando procedimientos rutinarios en la técnica y pueden variar con una afección o patología dada. En un aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más análogos de compstatina, o composiciones farmacéuticas

de los mismos, es una cantidad que restaura un parámetro fisiológico medible sustancialmente al mismo valor (preferentemente dentro del 30 %, más preferentemente dentro del 20 %, y aún así más preferentemente dentro del 10 % del valor) del parámetro en un individuo sin la afección o patología en cuestión.

En una realización de la invención, la administración de un compuesto o composición farmacéutica de la presente invención comienza a niveles de dosificación más bajos, incrementándose los niveles de dosificación hasta que se logra el efecto deseado de evitar/tratar la indicación médica relevante. Esto definiría una cantidad terapéuticamente eficaz. Para los análogos de compstatina de la presente invención, solos o como parte de una composición farmacéutica, dichas dosis humanas del análogo de compstatina activo pueden estar entre aproximadamente 0,01 pmol/kg y 500 μ mol/kg de peso corporal, entre aproximadamente 0,01 pmol/kg y 300 μ mol/kg de peso corporal, entre 0,01 pmol/kg y 100 μ mol/kg de peso corporal, entre 0,1 pmol/kg y 50 μ mol/kg de peso corporal, entre 1 pmol/kg y 10 μ mol/kg de peso corporal, entre 5 pmol/kg y 5 μ mol/kg de peso corporal, entre 10 pmol/kg y 1 μ mol/kg de peso corporal, entre 50 pmol/kg y 0,1 μ mol/kg de peso corporal, entre 100 pmol/kg y 0,01 μ mol/kg de peso corporal, entre 0,001 μ mol/kg y 0,5 μ mol/kg de peso corporal, entre 0,05 μ mol/kg y 0,1 μ mol/kg de peso corporal.

La dosificación terapéutica y el régimen más apropiados para el tratamiento del paciente variarán, por supuesto, con la enfermedad o afección

que se va a tratar, y de acuerdo con el peso del paciente y otros parámetros. Sin desear estar limitado a ninguna teoría en particular, se espera que la dosis, en el rango de mg/kg, y una duración o frecuencia de tratamiento más corta o más larga, puedan producir resultados terapéuticamente útiles, tales como una
5 inhibición estadísticamente significativa de las rutas del complemento alternativo y clásica. Los tamaños de dosis y el régimen de dosificación más apropiados para uso humano se pueden guiar por los resultados obtenidos por la presente invención y se pueden confirmar en ensayos clínicos diseñados adecuadamente.

10 Se puede determinar un protocolo de dosificación y tratamiento eficaz por medios convencionales, comenzando con una dosis baja en animales de laboratorio y luego aumentando la dosificación mientras se monitorizan los efectos, y también variando sistemáticamente el régimen de dosificación. Un médico puede tener en cuenta numerosos factores al determinar una
15 dosificación óptima para un sujeto dado.

Para la administración local al ojo, las composiciones farmacéuticamente aceptables se pueden formular en solución salina o agua estéril con pH ajustado isotónico, con o sin un conservante tal como cloruro de bencilalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticamente
20 aceptables se pueden formular en un ungüento tal como vaselina o como gotas para los ojos. Los procedimientos de administración local en el ojo incluyen, por ejemplo, inyección coroidea, inyección transescleral o colocación de un parche

escleral, cateterismo arterial selectivo, colirios o ungüentos oftálmicos, administración intraocular que incluye inyección transretinal, subconjuntival bulbar, intravítrea, inyección supracoroidea, inyección subtenona, bolsa escleral e inyección de corte escleral, mediante bomba osmótica, etc. El agente

5 también se puede administrar alternativamente por vía intravascular, tal como por vía intravenosa (IV) o intraarterial. En la inyección coroidea y el parche escleral, el médico utiliza un abordaje local del ojo después de iniciar la anestesia adecuada, que incluye analgésicos y oftalmopléjicos. Se dirige una

10 aguja que contiene el compuesto terapéutico a la coroides o la esclerótica del sujeto y se inserta bajo condiciones estériles. Cuando la aguja está colocada correctamente, el compuesto se inyecta en la coroides o la esclerótica o en ambas. Al utilizar cualquiera de estos procedimientos, el médico puede elegir una formulación de liberación sostenida o de acción más prolongada. Por lo

15 tanto, el procedimiento solo se puede repetir cada varios meses o varios años, dependiendo de la tolerancia del sujeto al tratamiento y la respuesta.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para describir la invención con mayor detalle. Están destinados a ilustrar, no a limitar, la invención.

Ejemplo 1: Síntesis de análogos de compstatina

Síntesis general de péptidos

Lista de abreviaturas y proveedores

**Abrevi
atura**

Nombre

Marca/ Proveedor

Resinas			
		TentaGel™ PHB AA(Proct)-Fmoc	Rapp Polymere
		TentaGel™ SRAM	Rapp Polymere
Aminoácidos			
		Pseudoprolinas (Por ejemplo, YS, FS, FT)	Jupiter Bioscience Ltd.
		Fmoc-L-Aaa-OH	Senn Chemicals AG
Reactivos de acoplamiento			
	Oxima Pura	Etil cianogloxilato-2-oxima	Chem Impex international
	DIC	Diisopropilcarbodiimida	Fluka/Sigma Aldrich Co.
	HATU	N-óxido de hexafluorofosfato de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazol[4,5-b]piridina-1-ilmetileno]-N-metilmetanamino	ChemPep Inc.
	HOBt	Hidroxibenzotriazol	Sigma-Aldrich Co.
Disolventes y reactivos			
	Boc ₂ O	Pirocarbonato de di-tert-butilo	Advanced ChemTech
	DCM	Diclorometano	Prolabo (VWR)

	DIPEA	Diisopropiletilamina	Fluka / Sigma Aldrich Co.
	DMF	N,N-dimetilformamida	Taminco
	Et ₂ O	Éter de dietilo	Prolabo (VWR)
	EtOH	Etanol	CCS Healthcare AB
	HCOOH	Ácido fórmico (grado HPLC)	Sigma-Aldrich Co.
	H ₂ O	Agua, agua Milli-Q	Millipore
	MeCN	Acetonitrilo (HPLC)	Sigma-Aldrich Co.
	NMP	N-metilpirrolidona	Sigma-Aldrich Co.
		Piperidina	Jubliant Life Sciences Ltd.
	TFA	Ácido trifluoroacético (HPLC)	Chemicals Raw Materials Ltd.
	TIS	Triisopropilsilano	Sigma-Aldrich Co.
	DODT	2,2'-(etilenodioxo)dietanol	Sigma-Aldrich Co
Otros	MeOH	Metanol	Sigma-Aldrich Co.
		Ácido ascórbico	Sigma-Aldrich Co.
	I ₂	Yodo	Sigma-Aldrich Co

Aparato y estrategia sintética

Los péptidos se sintetizaron por lotes en un sintetizador de péptidos, tal como un Sintetizador de Péptidos CEM Liberty o un Sintetizador Symphony X, de acuerdo con procedimientos de síntesis de péptidos en fase sólida utilizando 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc) como grupo protector N-α-amino y

adecuado grupos de protección comunes para funcionalidades de cadena lateral.

Como soporte polimérico se utilizaron resinas, tales como, por ejemplo, TentaGel™. El sintetizador se cargó con resina que antes de su uso se hinchó en DMF.

Acoplamiento

Sintetizador de péptidos CEM Liberty

Se agregó una solución de aminoácido protegido con Fmoc (4 equiv.) a la resina junto con una solución de reactivo de acoplamiento (4 equiv.) y una solución de base (8 equiv.). La mezcla se calentó mediante la unidad de microondas a 70 - 75 °C y se acopló durante 5 minutos o se acopló sin calor durante 60 minutos. Durante el acoplamiento, se burbujeó nitrógeno a través de la mezcla.

Sintetizador Symphony X

Las soluciones de acoplamiento se transfirieron a los recipientes de reacción en el siguiente orden: aminoácido (4 equiv.), HATU (4 equiv.) y DIPEA (8 equiv.). El tiempo de acoplamiento fue de 10 min a temperatura ambiente (RT) a menos que se indique lo contrario. La resina se lavó con DMF (5 x 0,5 min). En el caso de acoplamientos repetidos, el tiempo de acoplamiento fue en todos los casos de 45 min a RT.

Desprotección

Sintetizador de péptidos CEM Liberty

El grupo Fmoc se desprotegió utilizando piperidina en DMF u otros disolventes adecuados. Se agregó la solución de desprotección al recipiente de reacción y se calentó la mezcla durante 30 segundos alcanzando aproximadamente 40 °C. Se drenó el recipiente de reacción y se agregó
5 solución de desprotección nueva y posteriormente se calentó a 70-75 °C durante 3 min. Después de drenar el recipiente de reacción, la resina se lavó con DMF u otros disolventes adecuados.

Sintetizador Symphony X

La desprotección de Fmoc se realizó durante 2,5 minutos utilizando
10 piperidina al 40 % en DMF y se repitió utilizando las mismas condiciones. La resina se lavó con DMF (5 x 0,5 min).

Acilación de cadena lateral

Fmoc-Lys (Dde)-OH o alternativamente otro aminoácido con un grupo protector de la cadena lateral ortogonal se introdujo en la posición de la
15 acilación (lipidación de cadena lateral). El terminal N del péptido lineal se protegió con Ac o Boc. Mientras que el péptido todavía estaba unido a la resina, el grupo protector de cadena lateral ortogonal se dividió selectivamente utilizando hidrato de hidrazina recién preparado (2 – 4 %) en NMP durante 2 x 15 min. A continuación, se alargó la cadena lateral de lisina desprotegida
20 utilizando condiciones de acoplamiento estándar y desprotecciones de Fmoc con el elemento principal deseado. La fracción de lipidación se acopló como última etapa.

División

La resina peptídica seca se trató con TFA y eliminadores adecuados durante aproximadamente 2 horas. Se redujo el volumen del filtrado y se precipitó el péptido crudo después de la adición de éter de dietilo. El precipitado de péptido crudo se lavó varias veces con éter de dietilo y finalmente se secó.

Purificación por HPLC del péptido crudo

El péptido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa utilizando un aparato de HPLC convencional, tal como un Gilson GX-281 con combinación de bomba 331/332, para aplicación de gradiente binario equipado con una columna, tal como la columna Gemini NX 5u C18 110A de 5 x 25 cm y un colector de fracciones que utiliza un flujo de 20 - 40 ml/min con un gradiente adecuado de tampón A (ácido fórmico al 0,1 %, ac.) o A (TFA al 0,1 %, ac.) y tampón B (ácido fórmico al 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.) o B (TFA al 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.). Las fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS y las fracciones seleccionadas se agruparon y liofilizaron. El producto final se caracterizó por HPLC y MS.

Oxidación

Después de la purificación y liofilización del péptido lineal crudo, el péptido se redisolvió en TFA al 0,1 % en agua, acetonitrilo y ácidos acéticos hasta una solución transparente. La concentración de la solución de péptidos se mantuvo a aproximadamente 1 - 2 mg/ml dependiendo de la capacidad de los péptidos para solubilizarse. La solución de péptido se agitó, mientras se

agregó gota a gota una solución de yodo en metanol (aproximadamente 1,5 equiv.) hasta que la solución de péptido obtuvo un color naranja. Después de 10 – 15 minutos, se terminó la oxidación y se redujo el exceso de yodo con una solución de ácido ascórbico en agua (1 equiv.) hasta una solución de péptido incolora. La solución de péptido se diluyó con agua antes de la purificación por HPLC preparativa.

HPLC analítica

Las purezas finales se determinaron mediante HPLC analítica (serie Agilent 1100/1200) equipada con muestreador automático, desgasificador, celda de flujo de 20 µl y software Chromeleon. La HPLC se operó con un flujo de 1,2 ml/min a 40 °C utilizando una columna analítica, tal como una columna Kinetex de 2,6 µm XB-C18 100A 100X8,6 mm. El compuesto se detectó y cuantificó a 215 nm. Tampones A (TFA al 0,1 %, ac.) y tampón B (TFA al 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.).

15 Espectroscopía de masas

El análisis de MS final se determinó sobre una espectroscopía de masas convencional, por ejemplo, Waters Xevo G2 TOF, equipado con detector de electrorrociador con calibración de masa de bloqueo y software MassLynx. Se operó en modo positivo utilizando inyección directa y un voltaje de cono de 15V (1 TOF), 30 V (2 TOF) o 45 V (3 TOF) como se especifica en el cromatograma. La precisión fue de 5 ppm con una resolución típica de 15.000 - 20.000.

Síntesis del compuesto No 24:

Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH₂

La síntesis de péptidos en fase sólida se realizó en un Sintetizador Symphony X utilizando química Fmoc estándar. Se hinchó TentaGel S RAM (2,51 g; 0,23 mmol/g) en DMF (20 ml) antes de su uso y el grupo Fmoc se
5 desprotegió de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente.

Acoplamiento

Se acoplaron Fmoc-aminoácidos protegidos adecuados de acuerdo con la secuencia como se describió anteriormente utilizando HATU como reactivo de acoplamiento. Todos los acoplamientos se realizaron a R.T.

10 Desprotección

La desprotección de Fmoc se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente.

División del péptido de soporte sólido

El péptido-resina se lavó con EtOH (3 x 10 ml) y Et₂O (3 x 10 ml) y se
15 secó hasta peso constante a temperatura ambiente (r.t.). El péptido se dividió de la resina mediante tratamiento con TFA/DODT (95/5; 60 ml, 2 h; r.t.). El volumen del filtrado se redujo y el péptido crudo se precipitó después de la adición de éter de dietilo. El precipitado de péptido crudo se lavó varias veces con éter de dietilo y finalmente se secó hasta un peso constante a temperatura
20 ambiente con un rendimiento de 760 mg de producto de péptido crudo (pureza ~30 %).

Purificación por HPLC del péptido lineal crudo

El péptido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa utilizando una combinación de bomba Gilson GX-281 con 331/332 para aplicación de gradiente binario equipada con una columna *Gemini NX 5u C18* 110A de 5 x 25 cm y un recolector de fracciones y se procesa a 35 ml/min con un gradiente de tampón A (TFA al 0,1 %, ac.) y gradiente de tampón B (TFA al 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.) de 20 % de B a 45 % de B en 47 min. Las fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS y las fracciones relevantes se agruparon y liofilizaron para producir 190 mg, con una pureza del 85 %, según se caracterizó por HPLC y MS como se describió anteriormente.

10 MW monoisotópico calculado = 2001,58 encontrado 2001,81.

Oxidación del péptido lineal crudo

Se disolvieron 190 mg de péptido lineal purificado en 220 ml de TFA al 0,1 % en agua (65 %) y acetonitrilo (35 %) hasta una solución transparente. La solución de péptido se agitó, mientras que se agregó gota a gota una solución de yodo en metanol (2,2 ml, aproximadamente 1,5 equivalentes de yodo) hasta que la solución de péptido obtuvo un color naranja. La reacción fue seguida por HPLC analítica pero ya después de 10-15 minutos, terminó la oxidación. El exceso de yodo se redujo con una solución de ácido ascórbico en agua (220 ml, aproximadamente 1 equiv.) hasta obtener una solución de péptido incolora. La solución de péptido se redujo ligeramente por evaporación rotatoria antes de la purificación sobre HPLC preparativa.

15

20

Purificación por HPLC del péptido oxidado

El péptido crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa utilizando una combinación de bomba Gilson GX-281 con 331/332 para aplicación de gradiente binario equipada con una columna *Gemini NX 5u C18* 110A de 5 x 25 cm y un recolector de fracciones y se procesa a 35 ml/min con un gradiente de tampón A (TFA al 0,1 %, ac.) y gradiente de tampón B (TFA al 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.) de 20 % de B a 45 % de B en 47 min. Las fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS y las fracciones relevantes se agruparon y liofilizaron para producir 138 mg, con una pureza del 92 %, según se caracterizó por HPLC y MS como se describió anteriormente.

10 MW monoisotópico calculado = 1999,83 encontrado 1999,54.

Síntesis del compuesto No. 119

Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[Peg3][γGlu][Peg3])-NH₂

La síntesis de péptidos en fase sólida se realizó en un Sintetizador Symphony X utilizando química Fmoc estándar. Se hinchó TentaGel S RAM (3 x ~ 1,3 g; 0,22 mmol/g) en DMF (3 x 10 ml) antes de su uso y el grupo Fmoc se desprotegió de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente.

15

Acoplamiento

Se acoplaron Fmoc-aminoácidos protegidos adecuados de acuerdo con la secuencia como se describió anteriormente utilizando HATU como reactivo de acoplamiento. Todos los acoplamientos se realizaron a R.T. La lisina

20

utilizada para la incorporación de la fracción ramificada se incorporó como Fmoc-Lys(Dde)-OH para el acoplamiento ortogonal

Desprotección

La desprotección de Fmoc se realizó de acuerdo con el procedimiento
5 descrito anteriormente.

Acilación de cadena lateral

Mientras el péptido todavía estaba unido a la resina, el grupo protector de cadena lateral ortogonal (Dde) se dividió selectivamente utilizando hidrato de hidrazina recién preparado (2 – 4 %) en NMP durante 2 x 15 min. La cadena
10 lateral de lisina desprotegida se acopló de forma doblada con Fmoc-Peg3-OH seguido de acoplamientos simples con Fmoc-Glu-OtBu, Fmoc-Peg3-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Glu-OtBu y finalmente la fracción de éster de mono tert-butilo de ácido 17-carboxi-heptadecanoico utilizando condiciones de acoplamiento estándar.

15 División del péptido del soporte sólido

El péptido-resina se lavó con EtOH (3 x 15 ml) y Et₂O (3 x 150 ml) y se secó hasta peso constante a temperatura ambiente (r.t.). El péptido se dividió de la resina mediante tratamiento con TFA/DODT (95/5; 120 ml, 2 h; r.t.). Se redujo el volumen del filtrado y se precipitó el péptido crudo después de la
20 adición de éter de dietilo. El precipitado de péptido crudo se lavó varias veces con éter de dietilo y finalmente se secó hasta un peso constante a temperatura

ambiente, produciendo 2,36 g de producto de péptido crudo (pureza ~41 – 48 %).

Purificación por HPLC del péptido lineal crudo

El péptido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa
5 utilizando una combinación de bomba Gilson GX-281 con 331/332 para
aplicación de gradiente binario equipada con una columna *Gemini NX 5u C18*
110A de 5 x 25 cm y un recolector de fracciones y se procesa a 35 ml/min con
un gradiente de tampón A (TFA al 0,1 %, ac.) y gradiente de tampón B (TFA al
0,1 %, MeCN al 90 %, ac.) de 30 % de B a 60 % de B en 47 min. Las
10 fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS y las fracciones
relevantes se agruparon y liofilizaron para producir 744 mg, con una pureza del
84%, según se caracterizó por HPLC y MS como se describió anteriormente.
MW monoisotópico calculado = 3207,47 encontrado 3207,32.

Oxidación del péptido lineal crudo

15 Los 744 mg de péptido lineal purificado se disolvieron en 350 ml de TFA
al 0,1 % en agua, 150 ml de acetonitrilo y 100 ml de ácido acético hasta una
solución transparente (volumen total 600 ml). Se agitó la solución de péptido,
mientras que se agregó gota a gota una solución de yodo en metanol (4,7 ml,
aproximadamente 1,5 equivalentes de yodo) hasta que la solución de péptido
20 obtuvo un color naranja. La reacción fue seguida por HPLC analítica pero ya
después de 10 – 15 minutos, se terminó la oxidación. El exceso de yodo se
redujo con una solución de ácido ascórbico en agua (150 µl, aproximadamente

1 equiv.) hasta obtener una solución de péptido incolora. La solución de péptido se redujo ligeramente por evaporación rotatoria antes de la purificación sobre HPLC preparativa.

Purificación por HPLC del péptido oxidado

5 El péptido crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa utilizando una combinación de bomba Gilson GX-281 con 331/332 para aplicación de gradiente binario equipada con una *Gemini NX 5u C18* 110A de 5 x 25 cm y un recolector de fracciones y se procesa a 35 ml/min con un gradiente de tampón A (TFA al 0,1 %, ac.) y gradiente de tampón B (TFA al 10 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.) de 30 % de B a 60 % de B en 47 min. Las fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS y las fracciones relevantes se agruparon y liofilizaron para producir 510 mg, con una pureza del 91 %, según se caracterizó por HPLC y MS como se describió anteriormente. MW monoisotópico calculado = 3205,47 encontrado 3205,23.

15 **Tabla 1:** Compuestos sintetizados:

Compuesto	Secuencia
Compstatina 1-13	H-IC(1)VVQDWGHHRC(1)T-NH ₂
Ac- compstatina	Ac-IC(1)VVQDWGHHRC(1)T-NH ₂
4W9A*	Ac-IC(1)VWQDWGAHRC(1)T-NH ₂
Cp40*	H-{d}YIC(1)V[1-Me-Trp]QDW[Sar]AHRC(1)[N-Me-Ile]-NH ₂
A	Ac-IC(1)VWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
B	Ac-IC(1)VWQDWGSHRC(1)T-NH ₂

C	Ac-ESSAIC(1)VWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
D	Ac-IC(1)VWQDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
E	Ac-IC(1)VWQDWGAHSC(1)T-NH ₂
F	Ac-IC(1)VWQDWGEHSC(1)T-NH ₂
G	Ac-IC(1)VWQDWGEHRC(1)S-NH ₂
H	Ac-EGSAIC(1)VWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
J	Ac-IC(1)VWQDWGEHRC(1)TEGE-NH ₂
1	Ac-IC(1)IWQDWGAHRC(1)T-NH ₂
2	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
3	Ac-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
4	Ac-IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)T-NH ₂
5	Ac-IC(1)IWQDWGKHRC(1)T-NH ₂
6	Ac-IC(1)IWQDWGSHRC(1)T-NH ₂
7	Ac-IC(1)IWQKWGEHRC(1)T-NH ₂
8	Ac-IC(1)IWQKWGAHRC(1)TGAES-NH ₂
9	Ac-YC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
10	Ac-ESSAYC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
11	Ac-[Sar]C(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
12	Ac-IC(1)IWQDWGAHRC(1)E-NH ₂
13	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]-NH ₂
14	Ac-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
15	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
16	Ac-IC(1)IWQEWGEHRC(1)T-NH ₂
17	Ac-IC(1)IWQDWGDHRC(1)T-NH ₂
18	Ac-IC(1)IWQDWGRHRC(1)T-NH ₂
19	Ac-IC(1)IWQDWGAHSC(1)T-NH ₂
20	Ac-IC(1)IWQDWGEHSC(1)T-NH ₂
21	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)S-NH ₂

22	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)E-NH ₂
23	Ac-FC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
24	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH ₂
25	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEA-NH ₂
26	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TE-NH ₂
27	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE-NH ₂
28	Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
29	Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
30	Ac-EGEIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
31	Ac-ESEIC(1)IWQDWGEHRC(1)T-NH ₂
32	Ac-SEIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEA-NH ₂
33	Ac-EIC(1)IWQDWGEHRC(1)TE-NH ₂
34	Ac-EIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH ₂
35	Ac-EGEIC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE-NH ₂
36	Ac-ESEIC(1)IWQDWGEHRC(1)EGE-NH ₂
37	Ac-KEKIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEKE-NH ₂
38	Ac-EKGIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEKP-NH ₂
39	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGK-NH ₂
40	Ac-GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
41	Ac-SAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
42	Ac-SAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-NH ₂
43	Ac-FC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAE-NH ₂
44	Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]EGE-NH ₂
45	Ac-EGSAFC(1)IWQDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
46	Ac-ESSAIC(1)IWQDWGAHRC(1)T-NH ₂
47	Ac-IC(1)IWQDWGAHRC(1)TGAES-NH ₂
48	H-{d}YIC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]AHRC(1)[N-Me-Ile]-NH ₂
49	Ac-EGSAIC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂

50	Ac-EGSAIC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
51	Ac-IC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
52	Ac-IC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
53	Ac-EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
54	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
55	Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TE-NH ₂
56	Ac-EGSAFC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)TE-NH ₂
57	Ac-EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TE-NH ₂
58	Ac-EGSAFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE-NH ₂
59	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TE-NH ₂
60	Ac-EGSAFC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TE-NH ₂
61	Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
62	Ac-YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
63	Ac-FC(1)I[1-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
64	Ac-FC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
65	Ac-YC(1)I[2-Nal]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
66	Ac-YC(1)IWQDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
67	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-NH ₂
68	Ac-YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEAGS-NH ₂
69	Ac-YC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TESGA-NH ₂
70	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
71	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
72	Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TGAES-NH ₂
73	H-{d}YFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TGAES-NH ₂
74	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]GAES-NH ₂
75	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
76	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
77	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)TEA-NH ₂

78	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
79	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E-NH ₂
80	Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
81	Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
82	Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA-NH ₂
83	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
84	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)SEA-NH ₂
85	Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)ES-NH ₂
86	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
87	Ac-GEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
88	Ac-GE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA-NH ₂
89	Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)TEA-NH ₂
90	Ac-SE[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EA-NH ₂
91	H-{d}Y[Sar]C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEA-NH ₂

Compuesto	Secuencia
92	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu])-NH ₂
93	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂
94	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂
95	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K((15-carboxi-pentadecanoil)-[(Piperazina-1-il)-acetilo][Peg3][Peg3])-NH ₂
96	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂
97	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂

98	Ac-IC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([19-carboxi-nonadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂
99	[15-Carboxi-pentadecanoil]-ESSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH ₂
100	Ac-[K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3]-[Peg3]GSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEGE-NH ₂
101	Ac-EGSAIC(1)IWQDWGEHRC(1)TEG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu])-NH ₂
102	Ac-FC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂
103	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEH-[K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3]))-C(1)[Sar]E-NH ₂
104	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3])-NH ₂
105	Ac-SAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]KG[γGlu])-NH ₂
106	Ac-SAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
107	[15-Carboxi-pentadecanoil]-EGSEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
108	[17-Carboxi-heptadecanoil]-EGSEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]E-NH ₂
109	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
110	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGK-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
111	Ac-EGSAYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu][Peg3][Peg3]))-NH ₂
112	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-

	carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH ₂
113	Ac-ASGEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH ₂
114	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH ₂
115	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGK-K[17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu]]-NH ₂
116	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]K[γ Glu])-NH ₂
117	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH ₂
118	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[Peg3][γ Glu][Peg3])-NH ₂
119	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[Peg3][γ Glu][Peg3])-NH ₂
120	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[Peg3][γ Glu][Peg3])-NH ₂
121	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEW[Sar]EHRC(1)[Sar]EK[γ Glu]A-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[Peg3][γ Glu][Peg3])-NH ₂
122	Ac-SEYC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGA-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[Peg3][γ Glu][Peg3])-NH ₂
123	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]G[γ Glu])-NH ₂
124	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE-[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γ Glu]-G[γ Glu]]-NH ₂
125	Ac-SEYC(1)I[1-Me-

	Trp]QEWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
126	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
127	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)-[Sar]EGE[Peg3][Peg3]-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
128	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[Peg3][Peg3]-K([19-carboxi-nonadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
129	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGEGGG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
130	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGEGGG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
131	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGEGGG-K([15-carboxi-pentadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
132	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EK[γGlu]GGG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
133	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEK[γGlu]GGG-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
134	Ac-EFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)EGE-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
135	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TGAES-K([15-carboxi-hexadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
136	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]-QDWGEHRC(1)TEGE-[8-aminooctanoil]-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH ₂
137	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE-[8-aminooctanoil]-E-K([17-carboxi-heptadecanoil]-[γGlu]G[γGlu])-NH ₂

138	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE-[Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
139	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGESES-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu]))-NH ₂
140	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGE[Peg3]ES-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
141	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EGESES-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu])-NH ₂
142	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)TEGE[Peg3]ES-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu])-NH ₂
143	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHR[C(1)[Sar]EGE[Peg3][Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
144	Ac-SEFC(1)I[1-Me-Trp]QDW[Sar]EHRC(1)[Sar]E[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂
145	Ac-EF[C(1)I[1-Me-Trp]QDWGEHRC(1)[Sar]EA-[Peg3][Peg3]-K([17-carboxi-heptadecanoil][γGlu]G[γGlu])-NH ₂

*: 4W9A – descrito por Mallik et al., J. Med. Chem. 2005, 48, 274-286 (“V4W/H9A”).

Cp40- descrito por Qu et al., Immunobiology 2013, 281(4): 496-505 (también denominado en ese documento como “péptido 14”).

5 Ejemplo 2: Ensayo de hemólisis *In vitro*

Procedimiento

El efecto *in vitro* de los compuestos de la presente invención se evaluó al medir su efecto inhibidor de la ruta del complemento clásica en un ensayo de hemólisis.

Brevemente, los compuestos de la presente invención y los compuestos de referencia se disolvieron en DMSO y se diluyeron en Tampón de Ensayo Tris/Caseína (Tris 10 mM, NaCl 145 mM, MgCl₂ 0,5 mM, CaCl₂ 0,15 mM y caseína al 0,1 % p/v, ajustada a pH 7,4) como diluciones en serie de 9 puntos en una placa de 96 pocillos. Se lavaron glóbulos rojos de oveja (RBC) sensibilizados recubiertos con antisuero de eritrocitos de anti-oveja de conejo (Complement Technology, Inc., TX, EE.UU.) en Tampón de Ensayo Tris/Caseína. Se agregaron 50 µl de cada pocillo de compuesto diluido a una placa de 96 pocillos que contenía 50 µl de suero humano diluido (Complement Technology, Inc., TX, EE.UU.) y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. El factor de dilución del suero se optimizó para cada lote de suero para obtener un 70-90 % de hemólisis máxima utilizando el protocolo. A continuación, se agregaron 50 µl de glóbulos rojos de oveja sensibilizados a todos los pocillos (10⁷ por pocillo).

Después de 30 minutos de incubación a 37 °C con agitación suave, la reacción se detuvo mediante la adición de 50 µl de tampón Tris STOP por pocillo (EDTA 10 mM, Tris 10 mM, NaCl 145 mM ajustado a pH 7,4). A continuación, se eliminaron los RBC mediante centrifugación y el sobrenadante resultante se midió para hemólisis mediante absorbancia a 405 nm.

La respuesta se normalizó en relación con un control positivo y negativo (vehículo) para calcular el IC50 a partir de la curva de respuesta a la concentración utilizando el modelo no lineal logístico de 4 parámetros (4PL) para el ajuste de la curva. Todos los valores se basan en $n \Rightarrow 2$ determinaciones independientes.

Tabla 2: Efecto del intercambio de valina a isoleucina. El compuesto 1 se diferencia del compuesto 4W9A de la técnica anterior solo por la presencia de Ile en lugar de Val en la posición 3.

Compuesto No.	Hemólisis CP IC50 (nM)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
1	150	A c	I	C(1)	I	W	Q	D	W	G	A	H	R	C(1)	T	NH ₂
4W9A	250				V											

10 Se probaron compuestos adicionales como se muestra a continuación.

Tabla 3: Análisis *in vitro* de inhibición de la hemólisis

Compuesto	IC50[nM]
Compstatina	> 5 μ M
Ac-compstatina	> 5 μ M
4W9A	< 500
Cp40	< 100
1	< 250
2	< 100

3	< 100
4	< 100
5	< 250
6	< 250
7	< 1000
8	< 500
9	< 100
10	< 100
11	< 100
12	< 100
13	< 100
14	< 100
15	< 100
16	< 100
17	< 100
18	< 100
19	< 250
20	< 100
21	< 100
22	< 100
23	< 100
24	< 100
25	< 100
26	< 100
27	< 100
28	< 100
29	< 100
30	< 100

31	< 100
32	< 100
33	< 100
34	< 250
35	< 500
36	< 250
37	< 250
38	< 250
39	< 100
40	< 250
41	< 250
42	< 250
43	< 100
44	< 250
45	< 100
46	< 100
47	< 100
48	< 100
49	< 100
50	< 100
51	< 100
52	< 100
53	< 100
54	< 100
55	< 250
56	< 100
57	< 100
58	< 100

59	< 100
60	< 100
61	< 100
62	< 100
63	< 100
64	< 100
65	< 100
66	< 100
67	< 100
68	< 100
69	< 100
70	< 100
71	< 100
72	< 100
73	< 100
74	< 100
75	< 100
76	< 100
77	< 100
78	< 100
79	< 100
80	< 100
81	< 100
82	< 100
83	< 100
84	< 100
85	< 100
86	< 100

87	< 100
88	< 100
89	< 100
90	< 250
91	< 100

Compuesto	IC50[nM]
92	< 1000
93	< 500
94	< 500
95	< 500
96	< 1000
97	< 250
98	< 500
99	< 250
100	< 500
101	< 500
102	< 100
103	< 100
104	< 100
105	< 100
106	< 250
107	< 100
108	< 500
109	< 250
110	< 250
111	< 100

112	< 500
113	< 500
114	< 500
115	< 250
116	< 500
117	< 250
118	< 100
119	< 100
120	< 250
121	< 250
122	< 500
123	< 100
124	< 100
125	< 500
126	< 100
127	< 100
128	< 100
129	< 100
130	< 100
131	< 100
132	< 100
133	< 100
134	< 100
135	< 100
136	< 100
137	< 100
138	< 100
139	< 100

140	< 100
141	< 100
142	< 100
143	< 100
144	< 100
145	< 100

Los siguientes pares de compuestos, cada uno de los cuales difiere solo en la posición 3, muestran que los efectos de reemplazar la valina por isoleucina se observan en compuestos que tienen una variedad de secuencias de estructura de péptidos.

Tabla 4: Comparación directa de valina 3 con la isoleucina 3 en combinación con la modificación en la posición 9, 11 y/o 13.

Compu esto	Hemólisis CP IC50 (nM)	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13																		
2	94	Ac	I	C(1)	I	W	Q	D	W	G	E	H	R	C(1)	T	NH ₂				
A	350																			
6	140	Ac	I	C(1)	I	W	Q	D	W	G	S	H	R	C(1)	T	NH ₂				
B	360																			
3	69	Ac	E	S	S	A	I	C(1)	I	W	Q	D	W	G	E	H	R	C(1)	T	NH ₂
C	300																			
15	47	Ac	I	C(1)	I	W	Q	D	W	G	E	H	R	C(1)	T	GAES	NH ₂			

D	210		V	
19	140	Ac	I C(1) I WQDWG A H S C(1) T	NH ₂
E	>1000		V	
20	59	Ac	I C(1) I WQDWG E H S C(1) T	NH ₂
F	540		V	
21	77	Ac	I C(1) I WQDWG E H R C(1) S	NH ₂
G	180		V	
28	88	AcEGSA	I C(1) I WQDWG E H R C(1) Sar E	NH ₂
H	330		V	
24	90	Ac	I C(1) I WQDWG E H R C(1) T EGE	NH ₂
J	240		V	

También se demostró que la isoleucina en la posición 3 era superior en comparación con otros residuos que a menudo se consideran reemplazos “conservadores” de la isoleucina.

5 **Tabla 5: Efecto sobre la hemólisis de diferentes residuos en la posición 3**

Ac-IC(1)XWQDWGEHRC(1)T-NH₂

Compuesto	Posición 3 (X)	IC ₅₀ , hemólisis CP (nM)
A	Valina	350
2	Isoleucina	< 100
-	Leucina	500
-	Norvalina	> 1000
-	Norleucina	480

-	Fenilalanina	> 10000
-	Beta-Homo-Isoleucina	> 10000

Debido a la alta concentración de C3 que se encuentra en el suero, puede ser difícil utilizar el ensayo de hemólisis para diferenciar entre compuestos que tienen una afinidad muy alta para C3.

- 5 En dichas circunstancias, puede ser posible determinar una jerarquía más precisa de afinidad de unión a C3 mediante mediciones de SPR utilizando C3 inmovilizado, como se describió a continuación.

Ejemplo 3: Prueba de solubilidad

Materiales y procedimiento

- 10 Solubilidad del compuesto a 10 mg/ml

Se evaluó la solubilidad de los compuestos al medir la dispersión de la luz en un intervalo de pH de 4 a 7,5.

- Los compuestos se disolvieron en una solución madre de 20 mg/ml en H₂O a pH 2,5 o pH 10. Estas soluciones madre se diluyeron 1: 1 con solución
 15 tamponada 200 mM para llegar a una solución final de 10 mg de compuesto/ml en tampón 100 mM. Las 5 condiciones investigadas fueron (1) acetato pH 4,0, (2) acetato pH 5,0, (3) fosfato pH 6,0, (4) fosfato pH 7 y (5) fosfato pH 7,5.

- Estas muestras se equilibraron durante 15 minutos a temperatura ambiente, antes de evaluar la solubilidad mediante inspección visual y
 20 mediciones de absorbancia en un lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices).

Inspección visual

La inspección visual incluyó la verificación manual de la placa de 96 pocillos para pozos que son claros o no claros. Además de esto, se toma una imagen de la placa de 96 pocillos.

5 Lector de microplacas y dispersión de luz

La absorbancia se midió a cuatro longitudes de onda: 280 nm, 325 nm, 340 nm y 360 nm en una microplaca de 96 pocillos transparente a los rayos UV en un lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices). Los compuestos no absorben a 325 – 360 nm y la señal a estas longitudes de onda son, por lo tanto, una expresión de dispersión de luz, que refleja la presencia de partículas visibles o subvisibles que se detectan como señal aumentada.

La dispersión de luz se normalizó a la señal de las soluciones tampón puras (100 mM) y la solubilidad del compuesto se evaluó como buena (+) o mala (-). El criterio para esto fue una combinación de inspección visual y dispersión de luz que no exceda de 0,1 AU, en la que los valores por debajo de 0,1 AU son buenos en muestras visualmente claras.

Solubilidad de Compuesto No 24:

Solución madre

El compuesto No 24 se pesó cuidadosamente y se disolvió en H₂O-Cl a pH 2,5. La solución madre se equilibró durante 15 minutos a temperatura ambiente, momento en el que no estaban presentes partículas visibles. Se prepararon soluciones madre de tampón 200 mM para cada condición de pH.

Ensayo de solubilidad:

Las formulaciones para la prueba de solubilidad se hicieron al mezclar 50 µl de solución madre del compuesto No 24 y 50 µl de solución madre de tampón con una mezcla suave al pipetear la solución un par de veces. Esto se hizo para cada condición de tampón/pH en una microplaca de 96 pocillos transparente a los rayos UV (Corning 96 pocillos REF 3635). Las muestras de referencia sin el Compuesto No 24 se prepararon al mezclar 50 µl de H₂O-Cl pH 2,5 y 50 µl de solución madre de tampón. La placa se cubrió con una tapa y se dejó 15 minutos a temperatura ambiente antes de evaluar la solubilidad.

10 Medición de la solubilidad:

La solubilidad se evaluó mediante inspección visual de cada formulación y se tomó una imagen en una caja de fotos. Se midió la dispersión de luz a 280 nm, 325 nm, 340 nm y 360 nm en un lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices).

15 La inspección visual reveló que las condiciones 1, 2 y 3 estaban turbias y que la condición 2 contenía adicionalmente precipitados visibles. La medición de la absorbancia confirmó la evaluación visual con las condiciones 1, 2 y 3, todas excediendo el umbral de 0,1 AU. Por lo tanto, las condiciones 4 y 5 se consideraron buenas condiciones para la solubilidad de 10 mg/ml del
20 compuesto No 24.

De manera similar, se probaron la solubilidad de los compuestos adicionales (Tabla 6).

Tabla 6: Tabla de la mayoría de los compuestos solubles, probados a 10 mg/ml. “+” indica la solubilidad en las condiciones dadas, según lo determinado por la absorbancia UV que es menor que 0,1 AU a 340 nm y la muestra es transparente cuando se inspecciona manualmente. “-” indica falta de solubilidad en las condiciones dadas, ya que la absorbancia de UV a 340 nm excede 0,1 AU y/o es visiblemente turbio o contiene partículas.

Compuesto No.	Tampón y pH				
	Condición 1	Condición 2	Condición 3	Condición 4	Condición 5
	Acetato pH 4	Acetato pH 5	Fosfato pH 6	Fosfato pH 7	Fosfato pH 7,5
	4	5	6	7	7,5
1	+	-	-	-	-
3	+	-	-	+	+
14	+	-	-	+	+
15	+	-	-	+	+
22	+	-	-	+	+
24	-	-	-	+	+
25	+	-	-	+	+
27	-	-	-	+	+
28	+	+	+	+	+
30	-	-	-	+	+
31	+	+	+	+	+
32	-	-	-	+	+
33	-	-	+	+	+
36	-	-	-	+	+
40	-	-	+	+	+

41	-	-	+	+	+
44	-	-	+	+	+
45	-	+	+	+	+
49	-	-	+	+	+
50	-	-	+	+	+
51	-	-	+	+	+
52	-	-	+	+	+
53	-	-	+	+	+
54	-	-	+	+	+
55	-	-	+	+	+
56	-	-	+	+	+
57	-	-	+	+	+
60	-	-	+	+	+
61	-	-	+	+	+
62	-	-	+	+	+
63	-	-	+	+	+
65	-	-	+	+	+
66	-	-	+	+	+
67	-	-	+	+	+
68	-	-	+	+	+
72	-	-	+	+	+
73	+	-	-	+	+
74	-	+	+	+	+
76	-	-	+	+	+
77	-	-	+	+	+
78	-	-	+	+	+
79	-	-	+	+	+
80	-	-	+	+	+

81	-	-	+	+	+
----	---	---	---	---	---

Compuesto No.	Tampón y pH				
	Condición	Condición	Condición	Condición	Condición
	1	2	3	4	5
	Acetato pH 4	Acetato pH 5	Fosfato pH 6	Fosfato pH 7	Fosfato pH 7.5
102	-	+	+	+	+
103	-	+	+	+	+
104	-	+	+	+	+
105	-	-	+	+	+
107	-	-	+	+	+
108	-	-	+	+	+
109	-	+	+	+	+
111	-	-	+	+	+
114	+	+	+	+	+
115	-	-	+	+	+
116	-	-	+	+	+
118	-	+	+	+	+

Ejemplo 4: Medidas de afinidad por resonancia de plasmón de superficie (SPR)

5 Procedimiento

Se utilizó resonancia de plasmón superficial (SPR) para caracterizar péptidos con respecto a su afinidad de unión (K_d) por C3. Se inmovilizó C3 humano (Complement tech cat # A113c) sobre celdas de flujo individuales de

chips sensores CM5 (GE Healthcare) utilizando un acoplamiento de amina estándar a una densidad de aproximadamente 3000 unidades de resonancia (RU) en un tampón que constaba de fosfato 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, Tween20 al 0,05 %.

5 Para los experimentos de interacción se utilizó un enfoque de experimento de ciclos múltiples y se realizó utilizando un instrumento BiacoreT200™ (GE Healthcare) a 25 °C. Los péptidos se inyectaron en series de concentraciones crecientes (6-8 concentraciones diferentes) durante 60-120 s a un caudal de 30 µl/min en un tampón que constaba de tampón Tris 10 mM
10 a pH 7,4, con NaCl 150 mM y Tween20 al 0,05 %. A esto le siguió un período de disociación de hasta 10 minutos. La superficie C3 se regeneró entre ejecuciones por una inyección a 45 s de MgCl_2 3 M.

Los sensorgramas se referenciaron doblemente (superficie de referencia, espacios en blanco) antes del análisis de los perfiles cinéticos
15 ajustando globalmente los datos a un modelo de unión de Langmuir 1:1 para obtener las tasas de asociación y disociación para el cálculo de la constante de disociación de equilibrio K_d . Cada péptido se probó en al menos 3 experimentos independientes.

Tabla 7: Afinidades de unión de análogos de compstatina por C3 determinadas
20 mediante un ensayo de resonancia de plasmón de superficie con C3 inmovilizado.

Compuesto No,	Kd [nM]	N
2	16	3
4	1,5	3
15	14	3
20	37	3
21	16	3
23	2,8	3
24	28	5
28	44	3
29	21	3
43	3,3	3
48	0,12	3
49	3,2	3
50	13	3
53	1,4	3
54	3,0	3
61	0,33	3
63	4,3	3
67	0,68	7
73	0,30	3
75	1,5	3
81	9,7	3
82	5,4	3
85	1,3	3
86	2,6	3

Compuesto no.	Kd [nM]	N
102	1,7	3
104	34	2
106	5,4	5
107	6,1	5
111	8,2	5
117	24	3
118	11	5
119	9,8	3
120	28	3
121	30	3
122	63	3
123	11	3
124	31	3
125	71	3
126	5,2	3
127	8,5	3
128	6,5	3
130	4,4	3
139	7,4	3
140	7,6	3
141	6,6	3
142	4,8	3

Los siguientes pares de compuestos, que solo difieren en la posición 3, muestran los efectos de reemplazar valina por isoleucina en diferentes estructuras principales de péptidos.

Tabla 8: Afinidad de unión de análogos de compstatina a C3 inmovilizado determinada por un ensayo de resonancia de plasmón superficial (SPR).

Compues to No.	SPR Kd (nM)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2	16	Ac	I	C(1))	I	W	QDW	G	E	H	R	C(1))	T	NH ₂
A	130				V									
15	14	Ac	I	C(1))	I	W	QDW	G	E	H	R	C(1))	T	GAE S NH ₂
D	230				V									
21	16	Ac	I	C(1))	I	W	QDW	G	E	H	R	C(1))	S	NH ₂
G	160				V									
48	0,12	H	dTy r	I	C(1))	I	1MeTr p	QDW	Sa r	A	H	R	C(1) NMe lle	NH ₂
Cp40	0,31				V									

Ejemplo 5: Perfilado de compuestos de prueba en primates no humanos

5 (NHP)

Los monos *Cynomolgus* macho sanos (*Macaca fascicularis*) recibieron administraciones subcutáneas únicas de cada sustancia de prueba. Los compuestos se formularon en fosfato 20 mM ajustado con NaOH a pH 7,5 y

manitol para determinar la isotonicidad y se dosificaron a 1840 nmol/kg. Se recolectó sangre de una vena femoral de cada animal en los siguientes tiempos: Dosis previa, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 y 120 h (10 veces de muestreo). La sangre se recolectó en tubos de separación de suero y se dejó coagular a

5 temperatura ambiente. Los tubos se centrifugaron y el suero resultante se dividió en alícuotas y se congelaron sobre hielo seco y se almacenaron a – 80 °C nominalmente hasta el análisis. Todos los estudios de NHP se realizaron de acuerdo con las leyes y regulaciones de bienestar animal, que incluyen la aprobación del estudio mediante un proceso de revisión ética local.

10 El suero aislado de primates no humanos en momentos específicos después de la dosificación se analizó para determinar la actividad del complemento de la ruta alternativa utilizando el kit WIESLAB® de Ruta Alternativa del sistema del Complemento de Svar Life Science (anteriormente Euro diagnostic AB, Suecia) siguiendo el protocolo del fabricante. Brevemente,

15 las muestras de suero o los controles se diluyeron en tampón y se incubaron en tiras de microtitulación recubiertas con activadores específicos de la ruta alternativa. Se lavaron los pocillos y se detectó el C5b-9 formado utilizando los reactivos colorimétricos incluidos. Se midió la absorbancia a 405 nm. Se calculó el porcentaje de actividad de la ruta alternativa del complemento para

20 cada animal y el punto de tiempo en relación con la actividad previa a la dosis (0 horas) del animal individual con la resta del control negativo. Esto refleja la actividad farmacológica de los compuestos.

Los resultados del kit WIESLAB® de Ruta Alternativa se muestran en las figuras 1a-f.

En la figura 1a, el compuesto 61 no acilado tenía una duración de acción relativamente corta a pesar de la alta afinidad por C3. Lo mismo ocurre con los compuestos Cp40 no acilados (figura 1b) y el compuesto 54 (figura 1e). Por el contrario, los compuestos acilados de la Figura 1b, 1c, 1d, 1e y 1f en general poseían una actividad farmacológica de mayor duración in vivo en comparación con los compuestos no acilados a pesar de su menor afinidad. Aunque se sabe generalmente que la acilación de péptidos aumenta la semivida in vivo, se encontró sorprendentemente que la duración in vivo de la eficacia farmacológica se prolongó hasta este punto.

Para evaluar la vida media farmacocinética ($t_{1/2}$), las muestras de suero aisladas de primates no humanos en momentos específicos después de la dosificación se analizaron para el compuesto de fármaco total después de la preparación de muestra mediante extracción en fase sólida (SPE) y espectrometría de masas por cromatografía líquida (LC-MS/MS) utilizando estándar interno analógico. Se utilizó una medición única de las concentraciones séricas para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos utilizando el enfoque no compartimental en Phoenix WinNonlin 6.3. La semivida de eliminación terminal plasmática ($t_{1/2}$) se determinó como $\ln(2)/\lambda_z$ en el que λ_z es la magnitud de la pendiente de la regresión lineal logarítmica del perfil de concentración frente al tiempo logarítmico durante la fase terminal.

Los datos farmacocinéticos (PK) se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Datos de PK en NHP:

Compuesto	t_{1/2}
	horas
Cp40	31,8
54	9,71
61	23,3
104	96,3*
106	93,9*
107	20,1
111	157*
118	78,7*
118	155
119	139
122	127
123	105
124	112
139	82
140	100
141	145
142	143

*: Determinación aproximada, como t_{1/2} determinada en menos de tres veces la

5 vida media esperada.