

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
13 décembre 2012 (13.12.2012)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2012/168908 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 38/16 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2012/052896

(22) Date de dépôt international :
8 juin 2012 (08.06.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
11/55090 10 juin 2011 (10.06.2011) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, Rue Michel-Ange, F-75794 Paris cedex 16 (FR). UNIVERSITE DE POITIERS [FR/FR]; 15, rue de l'Hôtel Dieu, F-86034 Poitiers Cedex (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **BER-JEAUD, Jean-Marc** [FR/FR]; 83, Impasse de la Touche, F-86800 Savigny l'Evescault (FR). **LOISEAU, Clémence** [FR/FR]; 5, Impasse Jules Verne, F-16600 Margnac (FR). **TAMISIER, Martine** [FR/FR]; 5, rue de la Longerolle, F-86440 Migné Auxances (FR). **MARCHAND, Adrienne** [FR/FR]; 7, Allée des Petits Champs, F-86000 Poitiers (FR).

(74) Mandataires : **PEAUCELLE, Chantal** et al.; Cabinet Armengaud Aîné, 3, Avenue Bugeaud, F-75116 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

— avec la partie de la description réservée au listage des séquences (règle 5.2.a))

(54) Title : PEPTIDES FOR USE IN CANCER TREATMENT

(54) Titre : PEPTIDES POUR LEUR UTILISATION DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

(57) Abstract : The invention relates to peptides for use in cancer treatment, characterized in that they are selected from the group comprising warnericin or a warnericin derivative, the structure of which corresponds to the SEQ ID No. MQFITDLIK-KAVDX1X2KGLX3X4NK in which X1 is F or V, X2 is F or I, X3 is F or V, and X4 is G or D. (No figure)

(57) Abrégé : Abrégé L'invention se rapporte à des peptides pour une utilisation pour le traitement de cancer, caractérisés en ce qu'ils sont choisis dans le groupe comprenant la warnéricine ou un dérivé de warnéricine, dont la structure répond à la séquence SEQ ID N° MQFITDLIKKAVDX1X2KGLX3X4NK dans laquelle. X1 représente F ou V. X2 représente F ou I. X3 représente F ou V. X4 représente G ou D (pas de figure)



WO 2012/168908 A1

Peptides pour leur utilisation dans le traitement du cancer

L'invention se rapporte à des peptides pour leur utilisation dans le traitement du cancer et en particulier des leucémies.

5

Au cours des vingt dernières années plusieurs peptides antimicrobiens ont été décrits pour posséder une activité anticancéreuse (pour revues voir (Hoskin and Ramamoorthy 2008; Schweizer 2009)).

10 Ces activités ont été essentiellement décrites pour des peptides produits par des organismes supérieurs (insectes, batraciens, mammifères) et dans un cas au moins, la plantaricine A, par une bactérie (Sand et al. 2007).

Deux catégories sont à distinguer parmi ces peptides anticancéreux. La première catégorie
15 correspond aux molécules qui ont une activité cytotoxique et agissent contre les cellules saines autant que sur les cellules tumorales (mellitine, défensines et plantaricine A par exemple). Les peptides de la seconde catégorie se caractérisent par une activité spécifique, à faible concentration, contre les cellules cancéreuses sans action contre les cellules saines. Les cécropines d'insectes et magainines de batraciens font partie de ce groupe. Le mode
20 d'action de la plupart de ces peptides est membranolytique. C'est-à-dire que la membrane des cellules cibles est perméabilisée par les peptides, qui conduit à la mort cellulaire. Les cellules cancéreuses présentent des modifications importantes de leur composition membranaire en particulier concernant leur charge. En effet, une augmentation du contenu en phosphatidyl-sérine de ces cellules a été montrée (Utsugi et al. 1991; Dobrzynska et al.
25 2005). Cette modification implique une augmentation de la charge négative de surface de la membrane et donc facilite l'adsorption des peptides, cationiques pour la plupart, sur celle-ci.

Les travaux des inventeurs ont porté sur un peptide de 22 acides aminés, la warnéricine RK, sécrété par *Staphylococcus warneri* RK (Héchard et al. 2005; Verdon et al. 2008). Ce peptide,
30 comme les delta-lysines I et II de *S. warneri*, présente une forte activité anti-*Legionella*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'ordre du micromolaire. Son spectre d'activité est très spécifique du genre *Legionella* et de quelques rares *Bacillus* spp, mais avec

une CMI plus élevée. De plus, toutes les souches de *Legionella* spp testées à ce jour se sont avérées sensibles à l'action de ce peptide (Berjeaud and Héchard 2007). D'autre part ce peptide présente également une activité hémolytique importante puisqu'une concentration de 2 μ M entraîne 10% d'hémolyse sur érythrocytes humains.

5

De manière surprenante, il est apparu que ce peptide n'exerçait pas d'effet de perméabilisation sur des cellules monocluées isolées à partir de sang de donneurs sains, mais qu'une perméabilisation importante était observée, aux mêmes doses, sur des lymphocytes T malins isolés de patients leucémiques.

10

Des peptides naturels ou synthétiques, de structure primaire proche de celle de la warnéricine RK, se sont également révélés de grand intérêt.

L'invention a donc pour but de fournir de tels peptides pour une utilisation pour le traitement de cancers.

15

Elle vise également à fournir une méthode de traitement d'un patient atteint d'un cancer à l'aide desdits peptides.

Conformément à l'invention, les peptides pour une telle utilisation sont choisis dans le groupe comprenant la warnéricine ou un dérivé de warnéricine, dont la structure répond à la séquence SEQ ID N°1

MQFITDLIKKAVDX1X2KGLX3X4NK

dans laquelle

. X1 représente F ou V

. X2 représente F ou I

. X3 représente F ou V

. X4 représente G ou D

Des peptides préférés répondent aux séquences SEQ ID N°2 à 7 ci-dessous (leurs désignations donnant la modification d'acide(s) aminé(s) et sa position par rapport à la warnéricine est indiquée entre parenthèses:

30

SEQ ID N°2 : MQFITDLIKKAVDFFKGLFGNK (Warn)

SEQ ID N°3 : MQFITDLIKKAVDFFKGLVGNK (Warn 19V)

SEQ ID N°4: MQFITDLIKKAVDFFKGLFDNK (Warn 20D)

5 SEQ ID N°5: MQFITDLIKKAVDVFKGLFGNK (Warn 14V)

SEQ ID N°6: MQFITDLIKKAVDFIKGLFGNK (Warn 15I)

SEQ ID N°7: MQFITDLIKKAVDVIKGLFGNK (Warn14V 15I)

L'invention vise également des peptides dérivant de la PSM α (Phenol Soluble Modulin),
10 peptide produit par *S. epidermidis* (Mehlin et al. 1999), de séquence SEQ ID N°8

SEQ ID N°8 : MADVIAKIVEIVKGLIDQFTQK

et répondant à la structure de séquence SEQ ID N°9 suivante

SEQ ID N°9 : MAX5X6IAKIVEIVKX7LIDQFTQK

. X5 représente D ou G

15 . X6 représente V ou F

.X7 représente G ou K

Ces peptides répondent aux séquences SEQ ID N°10-13

SEQ ID N°10: MADVIAKIVEIVKKLIDQFTQK (PSM 14K)

20 SEQ ID N°11: MADVIAKIVEIVKKLIDQFTQK (PSM 4F)

SEQ ID N°12: MAGVIAKIVEIVKGLIDQFTQK (PSM 3G)

SEQ ID N°13: MAGVIAKIVEIVKKLIDQFTQK (PSM 3G 14K)

D'autres peptides comprennent la warnericine inversée

25 SEQ ID N°14: MNGFLGKFFDVAKKILDTIFQK (Warn inv)

Comme illustré par les exemples, ces peptides présentent en commun la propriété de
pouvoir perméabiliser sélectivement les membranes cellulaires de cellules cancéreuses,
conduisant à leur mort.

30

L'invention vise donc la mise à profit de ces propriétés pour l'élaboration de compositions
pharmaceutiques.

Ces compositions, pour utilisation pour le traitement du cancer, comprennent une quantité thérapeutiquement efficace d'au moins un peptide tel que défini ci-dessus, en association avec un véhicule pharmaceutiquement inerte.

5

Ces compositions renferment le cas échéant des principes actifs d'autres médicaments d'intérêt,

Les conditionnements en vue de la vente, en particulier l'étiquetage et les notices d'emploi, ainsi que l'emballage sont élaborés en fonction de l'application thérapeutique prévue.

10

Les compositions pharmaceutiques de l'invention pour l'utilisation pour le traitement de cancer sont administrables sous différentes formes, plus spécialement par voie injectable.

Les formes d'administration comprennent des solutions injectables par voie intra-veineuse, sous-cutanée ou intra-musculaire, élaborées à partir de solutions stériles ou stérilisables. Il peut s'agir également de suspensions ou d'émulsions.

15

Ces formes injectables renferment par unité de prise de 1 à 50mg de principe actif, de préférence de 10 à 30 mg.

20

La posologie utilisable chez l'homme sera choisie en tenant compte notamment de l'état du patient et de son âge. Des doses de 10 à 50 mg/jour sont généralement appropriées pour le traitement de cancer.

25

Les peptides ci-dessus sont avantageusement obtenus par voie de synthèse en opérant selon les techniques classiques. En variante, ils peuvent résulter de l'expression de séquences nucléotidiques correspondantes insérées dans des vecteurs d'expression appropriés, notamment des plasmides. On citera notamment la séquence SEQ ID N°15.

30

SEQ IDN°15: atgcaattta tcacagatct tatcaaaaaa gcagtagatt tcttcaaagg tttatttggt aacaaataa

L'invention vise donc également ces vecteurs en tant que nouveaux produits.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention sont donnés dans les exemples qui suivent dans lesquels il est fait référence aux Figures 1 à 3, qui représentent, respectivement,

- la Figure 1, le % de cellules mononucléées perméabilisées par la warnéricine RK,
- la Figure 2, le % de cellules de lignée Jurkat perméabilisées par la warnéricine RK, et
- la Figure 3, le % de cellules des lignées K562 et KG1 perméabilisées par la warnéricine RK.

Matériels et méthodes

1. Cellules de la lignée Jurkat

Les cellules de la lignée Jurkat (ATCC) sont des cellules leucémiques lymphoblastique T. Elles sont cultivées en milieu RPMI (Roswell Park Memorial institute) 1640, complémenté en sérum de veau foetal à 10% pendant 4 à 5 jours à 37°C sous 5% de CO₂.

2. Cellules mononuclées humaines

Les cellules mononuclées humaines (CMN) ont été récupérées à partir de sang frais, de donneurs sains volontaires, dilué au demi avec du milieu RPMI 1640 complémenté en sérum de veau foetal à 10%. Deux volumes de ce sang dilué ont été déposés sur un volume de Ficoll avant d'être centrifugés à 1200 g pendant 20 minutes à 4°C sans frein.

L'anneau blanchâtre produit par le gradient de ficoll et correspondant aux cellules mononuclées humaines a été récupéré dans du RPMI 1640 complémenté en sérum de veau foetal à 10%. Trois séries de lavages et centrifugations permettent d'éliminer les autres cellules. Un comptage est effectué au bleu acétique afin d'énumérer les CMN seulement et un comptage au bleu trypan (0,2%) pour dénombrer les cellules totales mortes et vivantes. Ces deux comptages permettent également de vérifier que l'échantillon n'est pas contaminé par les globules rouges.

3. Test d'activité des peptides

Après centrifugation à 20°C pendant 10 minutes à 400 g, les cellules ont été lavées avec du Phosphate Buffer Saline (PBS) puis centrifugées à nouveau dans les mêmes conditions. La concentration des cellules a alors été ramenée à 10^6 cellules/ml à l'aide d'un comptage au bleu de trypan et au bleu acétique en supplément pour les cellules mononuclées.

Les peptides testés aux concentrations finales de : 0, 1, 3, 6, 12,5 et 25 µg/ml ont été ajoutés à la suspension cellulaire (1 ml volume final). Les suspensions ont été incubées pendant 45 minutes à 37°C sous 5% de CO₂ avant analyse en cytométrie de flux.

4. Cytométrie en flux

Pour chaque type cellulaire les cellules incubées avec les peptides ont été analysées par cytométrie de flux après marquage avec l'Iodure de Propidium (IP). L'IP est un fluorochrome de fluorescence rouge (635 nm), qui s'intercale entre les bases des molécules d'ADN. Le fluorophore ne pénètre que dans les cellules dont la membrane est endommagée. Ainsi les cellules marquées (IP+) sont considérées comme perméabilisées et les cellules non marquées (IP-) sont considérées comme ayant une membrane intègre. Le fluorochrome de concentration 500µg/ml, est ajouté à hauteur de 5µl pour 1ml de suspension. Les cellules sont analysées à l'aide d'un cytomètre FACSCanto™ II (BD Biosciences). Un total de 100000 évènements (cellules) est mesuré pour chaque échantillon et l'acquisition se fait en utilisant le logiciel BD FACSDiVa 6.

Résultats

L'activité de la warnéricine RK a été testée vis-à-vis de cellules mononuclées humaines, dont des lymphocytes T, préparées à partir de sang de deux donneurs sains. Pour cela, des suspensions contenant 10E6 cellules par ml ont été incubées pendant 45 minutes à 37°C avec des concentrations croissantes de peptide dans un tampon Phosphate Buffer Saline (PBS). Les suspensions ont ensuite été analysées en cytométrie de flux après marquage avec

de l'iodure de propidium (IP). L'IP est un fluorophore intercalant de l'ADN qui ne peut pénétrer dans les cellules que si celles-ci ont leur membrane plasmique endommagée donc ont été perméabilisées.

- 5 La figure 1 présente les résultats obtenus en donnant le pourcentage de cellules perméabilisées, donc marquées à l'IP, en fonction de la concentration en warnéricine RK. Il apparaît ainsi que les CMN n'ont pas été perméabilisées par le peptide puisque le pourcentage de perméabilisation reste inférieur à 2% quelle que soit la concentration de peptide utilisée (Fig 1).

10

Les mêmes expériences ont été menées sur des cellules lymphoblastiques de la lignée Jurkat. Il s'agit de lymphocytes T malins isolés d'un patient leucémique. Les résultats sont présentés sur la figure 2.

- 15 Il apparaît ici que la warnéricine RK entraîne la perméabilisation de ces cellules dès la concentration de 6 µg/ml. De plus à 25 µg/ml la totalité des cellules traitées apparaissent marquées à l'IP.

- 20 Les mêmes essais ont été réalisés sur deux autres lignées leucémiques : lignée KG1 qui correspond à des: cellules leucémiques aigues myéloïdes (LAM); lignée K562 correspondant à des cellules leucémiques myéloïdes chroniques (LMC). Les résultats de perméabilisation sont présentés sur la figure 3.

- 25 Pour les trois types cellulaires on observe une perméabilisation révélée par l'internalisation d'iodure de propidium. Cette perméabilisation a été corrélée à la mort cellulaire par comptage des cellules au microscope optique après marquage au Bleu Trypan. De plus il apparaît alors que le nombre total de cellules entières diminue avec la dose de peptide alors qu'apparaissent des débris cellulaires, ce qui semble indiquer une lyse totale des cellules soumises à l'action de la warnéricine RK.

30

Autres résultats concernant les activités anticancéreuses de peptides analogues à la warnéricine RK

- 5 Les activités anticancéreuses des peptides de séquences SEQ ID N°2,4 et 5 ont été testées contre des cellules Jurkat et exprimées en % de mortalité induite par le peptide à 25µg/mL.

La valeur 100% correspond à la mortalité obtenue avec 10% de Triton X100

- 10 SEQ ID N°2 MQFITDLIKK AVDFFKGLFG NK: $95,9 \pm 0,7$
SEQ ID N°4 MQFITDLIKK AVDFFKGLFD NK: $87,7 \pm 2,7$
SEQ ID N° 5 MQFITDLIKK AVDVFKGLFG NK: $60,5 \pm 10,5$

- 15 Les activités hémolytiques des peptides testés contre des érythrocytes humains exprimées en concentration (µM) nécessaire pour induire 10% d'hémolyse sont rapportées ci-après.

Peptide SEQ ID N°2 2,78

Peptide SEQ ID N°4 9,09

Peptide SE4Q ID N° 5 11,1

20

Les peptides SEQ ID N°4 et SEQ ID N°5 présentent un intérêt particulier du fait de leur forte activité anticancéreuse (87,7% et 60,5% respectivement) et de leur activité hémolytique plus faible que celle de la warnéricine RK) d'un facteur 3 à 4.

25 Conclusion

Les résultats de ces études montrent que la warnéricine RK agit sur les cellules cancéreuses (Jurkat) en perméabilisant leur membrane et donc à terme en les « tuant » alors qu'aux mêmes doses le peptide est sans action sur des cellules saines.

30

Il est à noter que la PSMα, pour laquelle une activité anti-*Legionella* a été mise en évidence, n'a pas d'action contre les cellules humaines testées.

Références bibliographiques

- 5 Berjeaud JM, Hechard Y (2007) Method for preventing and/or treating articles or media contaminated with bacteria of the *Legionella* genus ed. Poitiers, C-Ud. PCT - WO2007/077316.
- Dobrzynska I, Szachowicz-Petelska B, Sulkowski S, Figaszewski Z (2005) Changes in electric charge and phospholipids composition in human colorectal cancer cells. *Molecular and cellular biochemistry* 276:113-119.
- 10 Hechard Y, Ferraz S, Bruneteau E, Steinert M, Berjeaud JM (2005) Isolation and characterization of a *Staphylococcus warneri* strain producing an anti-*Legionella* peptide. *FEMS microbiology letters* 252:19-23.
- Hoskin DW, Ramamoorthy A (2008) Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochimica et biophysica acta* 1778:357-375.
- 15 Mehlin C, Headley CM, Klebanoff SJ (1999) An inflammatory polypeptide complex from *Staphylococcus epidermidis*: isolation and characterization. *The Journal of experimental medicine* 189:907-918.
- Sand SL, Haug TM, Nissen-Meyer J, Sand O (2007) The bacterial peptide pheromone plantaricin A permeabilizes cancerous, but not normal, rat pituitary cells and differentiates between the outer and inner membrane leaflet. *The Journal of membrane biology* 216:61-20 71.
- Schweizer F (2009) Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. *European journal of pharmacology* 625:190-194.
- 25 Utsugi T, Schroit AJ, Connor J, Bucana CD, Fidler IJ (1991) Elevated expression of phosphatidylserine in the outer membrane leaflet of human tumor cells and recognition by activated human blood monocytes. *Cancer research* 51:3062-3066.
- Verdon J, Berjeaud JM, Lacombe C, Hechard Y (2008) Characterization of anti-*Legionella* activity of warnericin RK and delta-lysin I from *Staphylococcus warneri*. *Peptides* 29:978-984.

REVENDECATIONS

1 - Peptides pour une utilisation pour le traitement de cancer, caractérisés en ce qu'ils sont
choisis dans le groupe comprenant la warnéricine ou un dérivé de warnéricine, dont la
structure répond à la séquence SEQ ID N°1

MQFITDLIKKAVDX1X2KGLX3X4NK

dans laquelle

. X1 représente F ou V

. X2 représente F ou I

. X3 représente F ou V

. X4 représente G ou D

2 - Peptides selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils répondent aux séquences

SEQ ID N°2 :MQFITDLIKKAVDFFKGLFGNK

SEQ ID N°3 : MQFITDLIKKAVDFFKGLVGNK

SEQ ID N°4: MQFITDLIKKAVDFFKGLFDNK

SEQ ID N°5: MQFITDLIKKAVDVFKGLFGNK

SEQ ID N°6: MQFITDLIKKAVDFIKGLFGNK

SEQ ID N°7: MQFITDLIKKAVDVIKGLFGNK

-3 - Compositions pharmaceutiques pour utilisation pour le traitement du cancer,
caractérisées en ce qu'elles comprennent une quantité thérapeutiquement efficace d'au
moins un peptide selon la revendication 1 ou 2, en association avec un véhicule
pharmaceutiquement inerte.

- 4 – Compositions selon la revendication 3, caractérisées en ce qu'elles renferment en outre
des principes actifs d'autres médicaments.

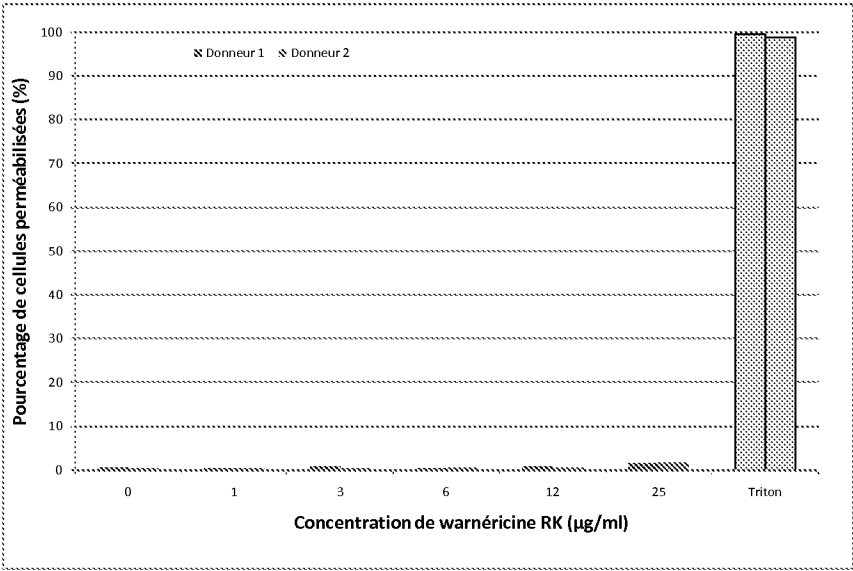
5 - Compositions pharmaceutiques selon la revendication 3 ou 4, pour l'utilisation pour le traitement de cancer, caractérisées en ce qu'elles se présentent sous des formes appropriées pour une administration par voie injectable.

5 6 - Compositions pharmaceutiques selon la revendication 5, pour l'utilisation pour le traitement de leucémies.

7 - Compositions pharmaceutiques selon la revendication 5 ou 6, caractérisées en ce qu'elles se présentent sous formes de solutions injectables par voie intra-veineuse, sous-cutanée ou
10 intra-musculaire, élaborées à partir de solutions stériles ou stérilisables, ou encore de suspensions ou d'émulsions.

8 – Composition selon la revendication 7, caractérisées en ce qu'elles renferment par unité de prise de 1 à 50 mg de principe actif, de préférence de 10 à 30 mg.

Figure 1



5

Figure 2

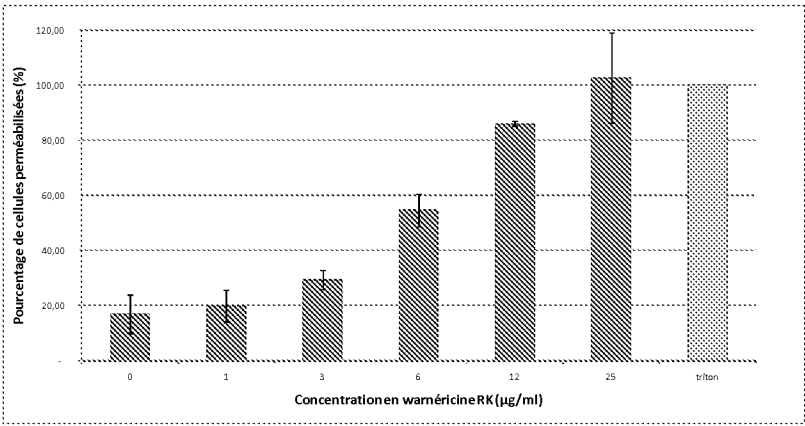
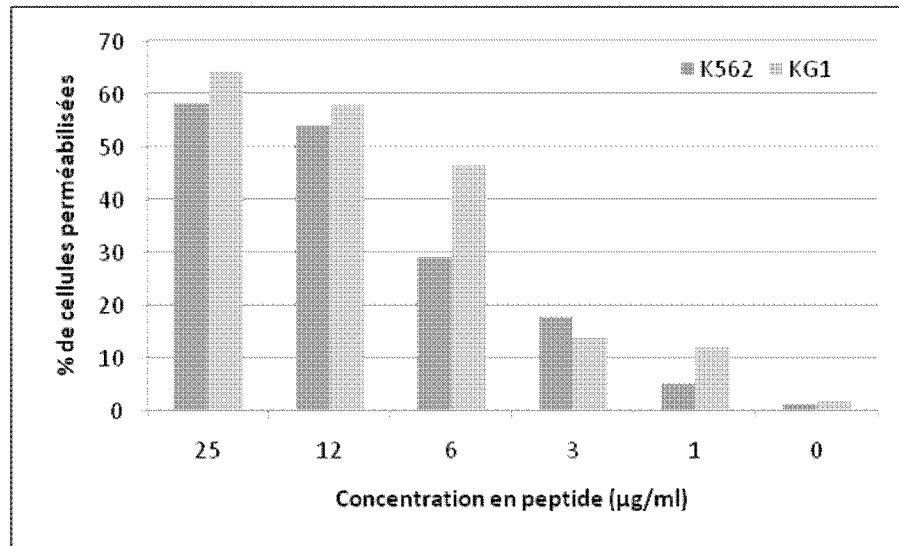


Figure 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2012/052896

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. A61K38/16 A61P35/00 A61P35/02
 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHWEIZER ET AL: "Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENCE, NL, vol. 625, no. 1-3, 25 December 2009 (2009-12-25), pages 190-194, XP026762262, ISSN: 0014-2999, DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2009.08.043 [retrieved on 2009-10-14] abstract page 191, column 1, last paragraph * p. 191, col. 2, 2. Membrane differences * * p. 191-1992 : 2.1 Membranolytic mode of actions of CAPs against cancer cells * ----- -/--	1-5,7,8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 July 2012

Date of mailing of the international search report

02/08/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Laffargue-Haak, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2012/052896

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	VERDON JULIEN ET AL: "Detergent-like activity and alpha-helical structure of warnericin RK, an anti-Legionella peptide.", BIOPHYSICAL JOURNAL 7 OCT 2009 LNKD-PUBMED:19804724, vol. 97, no. 7, 7 October 2009 (2009-10-07), pages 1933-1940, XP002670023, ISSN: 1542-0086 abstract page 1937, column 1, last paragraph - page 1938, column 2, paragraph 1; figure 7 page 1939, column 2, paragraph 1 -----	1-5,7,8
Y	VERDON J ET AL: "Characterization of anti-Legionella activity of warnericin RK and delta-lysin I from Staphylococcus warneri", PEPTIDES, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 29, no. 6, 1 June 2008 (2008-06-01), pages 978-984, XP022646983, ISSN: 0196-9781, DOI: 10.1016/J.PEPTIDES.2008.01.017 [retrieved on 2008-02-06] abstract; figures 1-3 -----	1-5,7,8
A	WO 2007/077316 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV POITIERS [FR]; HECHARD YANN [FR]; BE) 12 July 2007 (2007-07-12) cited in the application abstract; example 1; sequence 1 -----	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2012/052896

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007077316	A1	12-07-2007	
		AU 2006334313 A1	12-07-2007
		CA 2632918 A1	12-07-2007
		EP 1966380 A1	10-09-2008
		FR 2894969 A1	22-06-2007
		US 2010168001 A1	01-07-2010
		WO 2007077316 A1	12-07-2007

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2012/052896

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K38/16 A61P35/00 A61P35/02 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61K A61P C07K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	SCHWEIZER ET AL: "Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENCE, NL, vol. 625, no. 1-3, 25 décembre 2009 (2009-12-25), pages 190-194, XP026762262, ISSN: 0014-2999, DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2009.08.043 [extrait le 2009-10-14] abrégé page 191, colonne 1, dernier alinéa * p. 191, col. 2, 2. Membrane differences * * p. 191-1992 : 2.1 Membranolytic mode of actions of CAPs against cancer cells * ----- -/--	1-5,7,8
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 25 juillet 2012		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 02/08/2012
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Laffargue-Haak, T

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	VERDON JULIEN ET AL: "Detergent-like activity and alpha-helical structure of warnericin RK, an anti-Legionella peptide.", BIOPHYSICAL JOURNAL 7 OCT 2009 LNKD-PUBMED:19804724, vol. 97, no. 7, 7 octobre 2009 (2009-10-07), pages 1933-1940, XP002670023, ISSN: 1542-0086 abrégé page 1937, colonne 1, dernier alinéa - page 1938, colonne 2, alinéa 1; figure 7 page 1939, colonne 2, alinéa 1 -----	1-5,7,8
Y	VERDON J ET AL: "Characterization of anti-Legionella activity of warnericin RK and delta-lysin I from Staphylococcus warneri", PEPTIDES, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 29, no. 6, 1 juin 2008 (2008-06-01), pages 978-984, XP022646983, ISSN: 0196-9781, DOI: 10.1016/J.PEPTIDES.2008.01.017 [extrait le 2008-02-06] abrégé; figures 1-3 -----	1-5,7,8
A	WO 2007/077316 A1 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; UNIV POITIERS [FR]; HECHARD YANN [FR]; BE) 12 juillet 2007 (2007-07-12) cité dans la demande abrégé; exemple 1; séquence 1 -----	1-8

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2012/052896

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2007077316 A1	12-07-2007	AU 2006334313 A1	12-07-2007
		CA 2632918 A1	12-07-2007
		EP 1966380 A1	10-09-2008
		FR 2894969 A1	22-06-2007
		US 2010168001 A1	01-07-2010
		WO 2007077316 A1	12-07-2007
