

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0616936-8 A2**

(22) Data de Depósito: 04/10/2006
(43) Data da Publicação: 05/07/2011
(RPI 2113)



(51) *Int.Cl.:*

C12N 15/11 2006.01
A61K 38/08 2006.01
A61K 38/10 2006.01
A61P 33/00 2006.01
A61P 37/02 2006.01
C07K 16/00 2006.01
C12N 1/21 2006.01
C12N 15/63 2006.01
C12P 21/02 2006.01
C12Q 1/37 2006.01
C12N 9/48 2006.01

(54) Título: **PEPTÍDEOS INÉDITOS PARA TRATAMENTO E PREVENÇÃO DE DISTÚRBIOS RELACIONADOS AO SISTEMA IMUNOLÓGICO, INCLUINDO O TRATAMENTO E A PREVENÇÃO DE INFECÇÃO POR MODULAÇÃO DA IMUNIDADE INATA**

(30) Prioridade Unionista: 04/10/2005 US 60/722.958, 04/10/2005 US 60/722.959, 04/10/2005 US 60/722.962

(73) Titular(es): INIMEX PHARMACEUTICALS INC

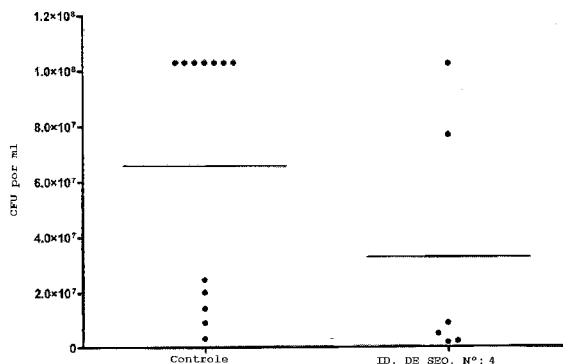
(72) Inventor(es): ANNETT ROZEK, OREOLA DONINI, SHANNON WAYNE LENTZ

(74) Procurador(es): Flávia Salim Lopes

(86) Pedido Internacional: PCT CA2006001650 de 04/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/038876 de 12/04/2007

(57) Resumo: PEPTÍDEOS INÉDITOS PARA TRATAMENTO E PREVENÇÃO DE DISTÚRBIOS RELACIONADOS AO SISTEMA IMUNOLÓGICO, INCLUINDO O TRATAMENTO E A PREVENÇÃO DE INFECÇÃO POR MODULAÇÃO DA IMUNIDADE INATA. Em um aspecto, a presente invenção fornece peptídeos isolados inéditos que podem ser usados para modular a imunidade inata em um indivíduo e/ou para o tratamento de um distúrbio relacionado ao sistema imunológico, incluindo o tratamento e a prevenção de infecção por modulação da imunidade inata. Também são fornecidos um agente reativo com o peptídeo, uma composição farmacêutica que inclui o peptídeo, uma molécula de ácido nucléico isolado que codifica o peptídeo, uma construção de ácido nucléico recombinante que inclui a molécula de ácido nucléico, pelo menos uma célula hospedeira que compreende a construção de ácido nucléico recombinante e um método de produção do peptídeo com o uso da célula hospedeira. A presente invenção ainda fornece um método para tratamento e/ou prevenção de infecção em um indivíduo por administração do peptídeo da invenção ao indivíduo modulando, dessa forma, a imunidade inata no indivíduo. Adicionalmente, a presente invenção fornece um método para prever se um indivíduo responderia ao tratamento com um peptídeo da invenção.



PEPTÍDEOS INÉDITOS PARA TRATAMENTO E PREVENÇÃO DE
DISTÚRBIOS RELACIONADOS AO SISTEMA IMUNOLÓGICO, INCLUINDO O
TRATAMENTO E A PREVENÇÃO DE INFECÇÃO POR MODULAÇÃO DA
IMUNIDADE INATA

5 PEDIDOS ANTERIORES RELACIONADOS

Este pedido reivindica a prioridade dos Pedidos Provisórios de Patente US 60/722.962, 60/722.958 e 60/722.959, depositados em 4 de outubro de 2005, todos intitulados "Novel Peptides For Treating And Preventing
10 Infection By Modulating Innate Immunity", e que são todos aqui incorporados por referência.

CAMPO DA INVENÇÃO

Esta invenção está relacionada aos peptídeos para uso no tratamento e na prevenção de distúrbios relacionados ao
15 sistema imunológico, incluindo o tratamento e a prevenção de infecção por modulação da imunidade inata. Em um aspecto, a invenção está relacionada às composições e usos destas para a modulação da imunidade inata. Em outro aspecto, a invenção fornece peptídeos inéditos e usos
20 destes eficazes na redução da atividade de DPPIV.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Diversos microorganismos, incluindo vírus, bactérias, fungos e parasitas, podem causar doenças. As células microbianas são distintas das células de animais e plantas
25 - que são incapazes de viver isoladamente na natureza, existindo apenas como partes de organismos multicelulares. As células microbianas podem ser patogênicas ou não patogênicas, dependendo, em parte, do microorganismo e do estado do hospedeiro. Por exemplo, em um hospedeiro
30 imunocomprometido, uma bactéria normalmente inofensiva pode

se tornar um patógeno. A entrada em células hospedeiras é crucial para a sobrevivência de patógenos bacterianos que se replicam em um meio intracelular. Para organismos que se replicam em locais extracelulares, a significância da entrada bacteriana nas células hospedeiras não é tão bem definida.

A resistência medicamentosa permanece um obstáculo no esforço contínuo para o combate às infecções. Por exemplo, a penicilina era eficaz no tratamento de *Staphylococcus aureus*, até a bactéria ter se tornado resistente. Por toda a segunda metade do século 20, foram desenvolvidos novos antibióticos como, por exemplo, vancomicina e meticilina; esses curavam com sucesso infecções por *S. aureus*. No entanto, surgiram cepas resistentes à meticilina de *S. aureus* nos anos 70, e desde então têm sido um grande problema em hospitais em todo o mundo. Mais recentemente, surgiram cepas resistentes à vancomicina de *S. aureus*.

Com a ameaça crescente da resistência aos fármacos antimicrobianos e a emergência de novas doenças infecciosas, há uma necessidade contínua de novos compostos terapêuticos. Substâncias terapêuticas que atuam sobre o hospedeiro, e não sobre o patógeno, são desejáveis, pois elas não estimulam a resistência patogênica. Em particular, fármacos que atuam sobre o hospedeiro através do sistema imune inato fornecem uma fonte promissora de substâncias terapêuticas.

As defesas do hospedeiro contra microorganismos começam com as barreiras epiteliais do corpo e o sistema imune inato, e culminam na indução da resposta imunológica adaptativa. A resposta imunológica inata do hospedeiro

engloba um conjunto de mecanismos altamente conservados que reconhecem e combatem infecções microbianas. Elementos de imunidade inata são mantidos continuamente em níveis baixos, e são ativados muito rapidamente quando estimulados. A resposta imunológica inata começa com eventos que ocorrem imediatamente após exposição e um patógeno microbiano. Eventos associados à imunidade adaptativa como, por exemplo, o rearranjo dos genes do receptor de imunoglobulina, não são considerados parte da resposta inata.

Há evidências que indicam que as respostas inatas servem de instrumento no controle da maioria das infecções, e também contribuem para as respostas inflamatórias. As respostas inflamatórias desencadeadas pela infecção são sabidamente componentes centrais da patogênese da doença. A importância de receptores *Toll-like* (TLRs) na resposta imunológica inata também foi bem caracterizada. A família mamífera de TLRs reconhece moléculas conservadas, muitas das quais são encontradas nas superfícies, ou são liberadas por patógenos microbianos. Há vários outros mecanismos menos bem caracterizados que iniciam e/ou contribuem para a defesa inata do hospedeiro.

O sistema imune inato fornece uma gama de mecanismos protetores, incluindo a função de barreira epitelial e a secreção de citocinas e quimiocinas. Até hoje, quatro famílias de quimiocinas foram categorizadas, de acordo com o número de motivos de cisteína conservados no terminal N: C, CC, CXC e CX₃C, em que X é um resíduo de aminoácido não conservado. As quimiocinas CXC são conhecidas por serem quimiotáticas para células que abrigam o receptor CXCR3,

incluindo monócitos, células T ativadas (Th1) e células NK (natural killer). As células epiteliais primárias da via aérea humana e a linhagem celular 16-HBE expressam constitutivamente o receptor CXCR3 e seus ligantes, IP-10, I-TAC e MIG (Kelsen e cols., "The chemokine receptor CXCR3 and its splice variant are expressed in human airway epithelial cells", *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 287: L584, 2004). Além disso, ligantes de CXCR3 induzem respostas quimiotáticas e reorganização de actina em células 16-HBE (Kelsen e cols., "The chemokine receptor CXCR3 and its splice variant are expressed in human airway epithelial cells", *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 287: L584, 2004).

Além disso, a serina protease dipeptidil peptidase transmembrana IV do tipo II (DPPIV), também conhecida como CD26 ou proteína de ligação de adenosina desaminase, é um regulador importante de vários processos fisiológicos, incluindo funções imunológicas. CD26/DPPIV é uma glicoproteína da superfície celular de 110 kD que é expressa principalmente em timócitos maduros, células T ativadas, células B, células NK, macrófagos e células epiteliais. Ela possui pelo menos duas funções, uma função de transdução de sinal e uma função proteolítica (Morimoto C, Schlossman S.F. "Structure and function of CD26 in the T-cell immune response". *Immunol. Review.* 1998, 161: 55-70.). Um de seus papéis celulares envolve a modulação da atividade de quimiocina por clivagem de dipeptídeos do terminal N de quimiocina. A modulação dos terminais NH₂ de quimiocinas é de grande importância não apenas para a ligação aos seus receptores e para as reações seguintes,

mas também para alteração da especificidade do receptor da quimiocina processada. A atividade de DPPIV foi associada a diversas condições relacionadas ao sistema imunológico.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

5 Os inventores descobriram que peptídeos que possuem a sequência de aminoácidos de um dos peptídeos listados e descritos na TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta podem aumentar a imunidade inata de um hospedeiro. Em um aspecto, verificou-se que os peptídeos imunomoduladores da invenção são desprovidos de atividade antimicrobiana, 10 embora demonstrem uma habilidade de aumentar a sobrevivência em hospedeiros infectados. Em outro aspecto, a invenção fornece peptídeos que modulam a atividade de DPPIV. Em um aspecto, a invenção fornece peptídeos que reduzem a 15 atividade de DPPIV. Ainda em outro aspecto, a invenção fornece peptídeos que podem ser usados no diagnóstico, tratamento ou prevenção de um distúrbio imunológico como, por exemplo, um associado à atividade de DPPIV e/ou à imunidade inata.

20 Conseqüentemente, em um aspecto, a presente invenção fornece um peptídeo isolado que inclui a sequência de aminoácidos de qualquer uma da TABELA 1, ou um análogo, derivado ou variante desta, ou um equivalente químico óbvio desta, ou um peptídeo que compreende o referido peptídeo. 25 Em uma modalidade, o peptídeo é de até 10 aminoácidos que compreendem o referido peptídeo. Como exemplo, o peptídeo isolado pode ter um terminal C modificado (por exemplo, um terminal C aminado) e/ou um terminal N modificado. O peptídeo isolado da invenção pode ainda incluir a sequência 30 de aminoácidos da TABELA 1 modificada por pelo menos uma

substituição de um aminoácido D. O peptídeo isolado pode ainda incluir uma estrutura básica modificada, como exemplo, em que o terminal N é modificado de uma amida para um N-metil. Em um aspecto, aqueles peptídeos modificados
5 que retêm a atividade imunológica do peptídeo original, e equivalentes químicos óbvios deste que retêm a referida atividade, são englobados dentro do escopo da presente invenção.

Em outro aspecto, a presente invenção ainda fornece um
10 agente reativo com um peptídeo isolado que inclui a sequência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta. Em uma modalidade, o agente é um anticorpo de ocorrência não natural (por exemplo, um anticorpo policlonal ou monoclonal). Em uma modalidade, o
15 anticorpo é feito com o uso de um antígeno MAPS anexado ao peptídeo da presente invenção por meio de 2 resíduos de glicina inseridos no terminal C do peptídeo. A construção pode então ser administrada a um animal, por exemplo, um coelho, e o anticorpo coletado com o uso de procedimentos
20 bem conhecidos na técnica. Em um aspecto, esses agentes podem ser marcados ou usados para marcar peptídeos da invenção. Em outro aspecto, esses agentes podem ser usados em métodos diagnósticos e de rastreamento para monitorar agentes que podem modular a atividade do peptídeo ou para
25 quantificar a quantidade do peptídeo.

Ainda em outro aspecto, a presente invenção fornece uma molécula de ácido nucléico isolado que codifica um peptídeo isolado que possui ou que compreende uma sequência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou
30 variante desta. Também é fornecida uma construção de ácido

nucléico recombinante que inclui a molécula de ácido nucléico ligada operacionalmente a um vetor de expressão.

Em um aspecto adicional, a presente invenção fornece pelo menos uma célula hospedeira que compreende a
5 construção de ácido nucléico recombinante da invenção. Também é fornecido um método para a produção de um peptídeo que possui ou que compreende a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta, por:
(a) cultivo de pelo menos uma célula hospedeira, sob
10 condições que permitem a expressão do peptídeo; e (b) recuperação do peptídeo dessa célula hospedeira ou meio de cultura desta.

Ainda em outro aspecto, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que inclui um peptídeo isolado
15 que possui ou que compreende a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta (incluindo um sal farmaceuticamente aceitável, sal de adição ou éster de qualquer um dos citados anteriormente ou polimorfo), em combinação com um veículo, diluente ou
20 excipiente farmaceuticamente aceitável.

Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método para tratamento e/ou prevenção de infecção (por exemplo, uma infecção microbiana) em um indivíduo, por administração ao indivíduo de um peptídeo que possui ou que
25 compreende a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta, ou equivalente químico óbvio desta. Como exemplo, o indivíduo pode ter, ou em risco de ter, infecção. Em uma modalidade, o peptídeo modula a imunidade inata no indivíduo tratando ou
30 prevenindo, dessa forma, a infecção no indivíduo. A

presente invenção ainda fornece um método para a identificação de uma infecção microbiana que pode ser tratada com um peptídeo da invenção. Em outro aspecto, a invenção fornece um método para tratamento ou prevenção de
5 uma condição ou distúrbio relacionado à DPPIV.

Infecções exemplares que podem ser tratadas e/ou evitadas pelo método da presente invenção incluem uma infecção por uma bactéria (por exemplo, uma bactéria Gram-positiva ou Gram-negativa), uma infecção por um fungo, uma
10 infecção por um parasita e uma infecção por um vírus. Em uma modalidade da presente invenção, a infecção é uma infecção bacteriana (por exemplo, infecção por *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. ou
15 enterococo resistente à vancomicina). Em outra modalidade, a infecção é uma infecção fúngica (por exemplo, infecção por um bolor, uma levedura ou um fungo superior). Ainda em outra modalidade, a infecção é uma infecção parasitária (por exemplo, infecção por um parasita unicelular ou
20 multicelular, incluindo *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis* e *Toxoplasma gondii*). Ainda em outra modalidade, a infecção é uma infecção viral (por exemplo, infecção por um vírus associado à AIDS, gripe aviária, varicela, lesões por herpes simples (cold sores),
25 resfriado comum, gastroenterite, febre glandular, influenza, sarampo, caxumba, faringite, pneumonia, rubéola, SARS e infecção do trato respiratório inferior ou superior (por exemplo, vírus sincicial respiratório)).

De acordo com o método da presente invenção, um
30 peptídeo que possui ou que compreende a sequência de

aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta, pode ser administrado ao indivíduo diretamente (ou seja, por administração do próprio peptídeo) ou indiretamente (por exemplo, por administração ao indivíduo de uma seqüência de ácidos nucleicos que codifica o peptídeo, de uma forma que permita a expressão do peptídeo no indivíduo). O peptídeo da invenção (ou o ácido nucleico que o codifica) pode ser administrado ao indivíduo por via oral, parenteral (por exemplo, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa ou subcutânea), transdérmica, intranasal, por administração pulmonar (por exemplo, por administração intratraqueal) e/ou por bomba osmótica.

Ainda em outro aspecto, a presente invenção fornece um método para prever se um indivíduo responderia ao tratamento com um peptídeo que compreende a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta, por teste de uma amostra diagnóstica do indivíduo quanto à atividade de DPPIV, em que a modulação, por exemplo, a redução da atividade de DPPIV, é indicativa de que o indivíduo responderia ao tratamento pelo peptídeo. Em um aspecto, o indivíduo tem ou é suspeito de ter uma condição ou distúrbio relacionado à DPPIV.

Aspectos e vantagens adicionais da presente invenção ficarão evidentes à luz da descrição que será apresentada a seguir. Deve-se entender, no entanto, que a descrição detalhada e os exemplos específicos, embora indiquem modalidades preferidas da invenção, são oferecidos apenas como ilustração, na medida em que várias alterações e modificações dentro do espírito e do escopo da invenção ficarão evidentes para aqueles habilitados na técnica a

partir dessa descrição detalhada.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A invenção será agora descrita em relação aos desenhos, nos quais:

5 As FIG. 1 A e B revelam os resultados do experimento descrito no Exemplo 2.

%Viabilidade = a quantidade de crescimento bacteriano em relação ao controle de veículo (Tris), que é ajustado para 100% de sobrevivência bacteriana com os respectivos peptídeos

10 IDS. DE SEQ. N^{os}: 5, e 47; Erythr. = eritromicina.

As FIG. 2 A - G revelam os resultados do experimento descrito no Exemplo 3. O gráfico mostra unidades de formação de colônias por ml (CFU/ml) no eixo Y, e o grupo de tratamento (controle = sem peptídeo; IDS. DE SEQ. N^{os}:
15 1, 4, 5, 6, 45 e 47 = tratamento com um peptídeo que possui a respectiva seqüência de aminoácidos) no eixo X. É mostrada a contagem bacteriana de camundongos individuais.

As FIG. 3 A e B revelam os resultados do experimento descrito no Exemplo 4. O gráfico mostra unidades de
20 formação de colônias por ml (CFU/ml) no eixo Y, e grupo de tratamento (controle = sem peptídeo; IDS. DE SEQ. N^{os}: 1 e 5 = tratamento com um peptídeo que possui a respectiva seqüência de aminoácidos) no eixo X. É mostrada a contagem bacteriana de camundongos individuais.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Definições

"Distúrbio relacionado à DPPIV" ou "condição relacionada à DPPIV" ou "condição associada à DPPIV", como aqui usados, significam qualquer condição médica que foi
30 correlacionada à atividade de DPPIV e em que a modulação da

referida atividade pode ser usada para tratar e/ou evitar ou diagnosticar a referida condição. Exemplos dessas condições incluem, sem limitação: HIV/AIDS, condições autoimunes, tais como artrite reumatóide, esclerose múltipla, câncer (por exemplo, do cólon e do pulmão), diabetes e doença de Graves.

"Distúrbio relacionado ao sistema imunológico" é uma condição que está associada ao sistema imune de um indivíduo, tanto através da ativação quanto da inibição do sistema imune, ou que pode ser tratada, evitada ou diagnosticada por direcionamento de certo componente da resposta imunológica em um indivíduo como, por exemplo, a resposta imunológica inata.

"Imunologicamente ativo", como aqui usado, refere-se à atividade imune inata (por exemplo, a habilidade para modular a resposta imunológica inata ou um componente desta em um indivíduo), ou à habilidade para modular a atividade de DPPIV.

"Modular" ou "que modula", como aqui usada, por exemplo, a modulação da atividade de DPPIV ou uma resposta em particular, engloba o aumento ou a diminuição da atividade ou da resposta em relação a um controle ou ao nível normal ou basal da atividade ou da resposta, sob certas condições. Ele também pode englobar a manutenção de um nível da atividade ou da resposta sob condições que normalmente aumentariam ou diminuiriam o nível da atividade do peptídeo ou da resposta.

"Sais farmacêuticamente aceitáveis" referem-se aos sais atóxicos de metal alcalino, metal alcalino terroso e de amônio comumente usados na indústria farmacêutica,

incluindo os sais de sódio, potássio, lítio, cálcio, magnésio, bário, amônio e zinco protamina, que são preparados por métodos bem conhecidos na técnica. O termo também inclui sais atóxicos de adição ácida, que são
5 geralmente preparados por reação dos compostos desta invenção com um ácido orgânico ou inorgânico adequado. Sais representativos incluem o sal de cloridrato, hidrobrometo, sulfato, bissulfato, acetato, oxalato, valerato, oleato, laureato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato,
10 citrato, maleato, fumarato, succinato, tartarato, napsilato, trifluoracetato e semelhantes.

"Sais de adição ácida farmacologicamente aceitáveis" refere-se àqueles sais que retêm a eficácia biológica e as propriedades das bases livres e que não são biologicamente
15 ou de algum outro modo indesejáveis, formados com ácidos inorgânicos, tais como ácido clorídrico, ácido hidrobromico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico e semelhantes, e ácidos orgânicos, tais como ácido trifluoracético, ácido acético, ácido propiônico,
20 ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malônico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanossulfônico, ácido etanossulfônico, ácido p-
25 toluenossulfônico, ácido salicílico e semelhantes. Para uma descrição de sais de adição ácida farmacologicamente aceitáveis como pró-fármacos, veja Bundgaard, H., ed., (1985) "Design of Prodrugs", Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

30 "Éster farmacologicamente aceitável" refere-se àqueles

ésteres que retêm, mediante hidrólise da ligação éster, a eficácia biológica e as propriedades do ácido carboxílico ou álcool, e não são biologicamente ou de algum outro modo indesejáveis. Para uma descrição de ésteres

5 farmacologicamente aceitáveis como pró-fármacos, veja Bundgaard, H., *supra*. Esses ésteres são formados tipicamente a partir do ácido carboxílico correspondente e de um álcool. Geralmente, a formação do éster pode ser obtida através de técnicas sintéticas convencionais (veja,

10 por exemplo, March, "Advanced Organic Chemistry", 3ª Ed., John Wiley & Sons, Nova York (1985) p. 11.57 e referências nele citadas, e Mark e cols., "Encyclopedia of Chemical Technology", John Wiley & Sons, Nova York (1980)). O componente alcoólico do éster compreenderá geralmente: (i)

15 um álcool alifático C₂-C₁₂ que pode ou não conter uma ou mais ligações duplas, e pode ou não conter cadeias ramificadas de carbono, ou (ii) um álcool aromático ou heteroaromático C₇-C₁₂. Esta invenção também contempla o uso daquelas composições que tanto são ésteres como aqui

20 descritos, quanto, ao mesmo tempo, são os sais de adição ácida farmacologicamente aceitáveis destes.

"Amida farmacologicamente aceitável" refere-se àquelas amidas que retêm, mediante hidrólise da ligação amida, a eficácia biológica e as propriedades do ácido carboxílico ou amina, e não são biologicamente ou de algum outro modo indesejáveis. Para uma descrição de amidas

25 farmacologicamente aceitáveis como pró-fármacos, veja Bundgaard, H., ed., *supra*. Essas amidas são formadas tipicamente a partir do ácido carboxílico correspondente e

30 uma amina. Geralmente, a formação da amida pode ser obtida

através de técnicas sintéticas convencionais (veja, por exemplo, March, "Advanced Organic Chemistry", 3ª Ed., John Wiley & Sons, Nova York (1985) p. 1.152 e Mark e cols., "Encyclopedia of Chemical Technology", John Wiley & Sons, Nova York (1980)). Esta invenção também contempla o uso daquelas composições que são tanto amidas como aqui descritas, quanto, ao mesmo tempo, são os sais de adição ácida farmacêuticamente aceitáveis destas.

"Veículo farmacêutica ou terapeuticamente aceitável" refere-se a um meio transportador que não interfere com a eficácia da atividade biológica dos ingredientes ativos, e que não é tóxico para o hospedeiro ou paciente.

"Estereoisômero" refere-se a um composto químico que possui o mesmo peso molecular, composição química e constituição que outro, mas com os átomos agrupados de forma diferente. Ou seja, certas porções químicas idênticas estão em orientações diferentes no espaço e, portanto, quando puras, possuem a habilidade para girar o plano da luz polarizada. No entanto, alguns estereoisômeros puros podem ter uma rotação óptica tão discreta que é indetectável com a instrumentação atual. Os compostos da presente invenção podem ter um ou mais átomos assimétricos de carbono e, portanto, incluem vários estereoisômeros. Todos os estereoisômeros imunologicamente ativos estão incluídos dentro do escopo da invenção.

O termo "quantidade terapêutica ou farmacêuticamente eficaz", quando aplicado às composições da presente invenção, refere-se à quantidade de composição suficiente para induzir um resultado biológico desejado. Aquele resultado pode ser o alívio dos sinais, sintomas ou causas

de uma doença, ou qualquer outra alteração desejada de um sistema biológico. Por exemplo, na presente invenção, o resultado envolverá tipicamente o aumento da resposta imunológica inata, a redução da atividade de DPPIV e/ou a modulação (por exemplo, a inibição ou redução ou não estimulação) das respostas inflamatórias à infecção ou à lesão tecidual.

Os resíduos de aminoácidos nos peptídeos são abreviados da seguinte forma: Fenilalanina é Phe ou F; Leucina é Leu ou L; Isoleucina é Ile ou I; Metionina é Met ou M; Valina é Val ou V; Serina é Ser ou S; Prolina é Pro ou P; Treonina é Thr ou T; Alanina é Ala ou A; Tirosina é Tyr ou Y; Histidina é His ou H; Glutamina é Gln ou Q; Asparagina é Asn ou N; Lisina é Lys ou K; Ácido aspártico é Asp ou D; Ácido glutâmico é Glu ou E; Cisteína é Cys ou C; Triptofano é Trp ou W; Arginina é Arg ou R; e Glicina é Gly ou G. Além disso, a abreviação Nal é usada pra representar 1-naftilalanina; Ornitina é Orn ou O, Cit é citrulina; Hci é citrulina com um ou mais grupos metileno, e Vx ou Valina x, em que o "x" refere-se a uma variação na estrutura básica do aminoácido, em que a ligação do aminoácido não é mais uma ligação amida, mas uma amina metilada, e isso se aplica similarmente a outros aminoácidos com a designação "x". Além disso, ácido 2,4-diaminobutírico é Dab; ácido 2,3-diaminopropiônico é Dpr ou Dapa; N-(4-aminobutil)-glicina é Nlys; hSer é homoserina; Hyp é hidroxiprolina; Val(betaOH) é hidroxivalina; D-Pro é 3,4-dehidroprolina; Pyr é piroglutamina (prolina com CO= no anel); prolina com substituições flúor no anel; ácido 1,3-tiazolidina-4-carboxílico (prolina com S no anel); Thi é beta-(2-tienil)-

alanina; Abu é ácido 2-aminobutírico; Nva é norvalina; Nle é norleucina; Hol é homoleucina, e Aib é ácido alfa-aminoisobutírico.

Além dos peptídeos que consistem somente em aminoácidos de ocorrência natural, também são fornecidos peptidomiméticos ou análogos de peptídeos. Análogos de peptídeos são usados comumente na indústria farmacêutica como fármacos não peptídicos com propriedades análogas àquelas do peptídeo-modelo. Esses tipos de compostos não peptídicos são denominados "miméticos de peptídeos" ou "peptidomiméticos" (Fauchere, J., *Adv. Drug Res.* 15: 29 (1986); Veber e Freidinger, *TINS* p. 392 (1985); e Evans e cols., *J. Med. Chem.* 30: 1.229 (1987), que são aqui incorporados por referência). Miméticos de peptídeos que são estruturalmente similares aos peptídeos terapeuticamente úteis podem ser usados para produzir um efeito terapêutico ou profilático equivalente ou aumentado. Geralmente, peptidomiméticos são estruturalmente similares a um peptídeo de paradigma (ou seja, um peptídeo que possui uma atividade biológica ou farmacológica), por exemplo, peptídeo de ligação ao receptor de ocorrência natural, mas que possui uma ou mais ligações peptídicas opcionalmente substituídas por uma ligação selecionada do grupo que consiste em: $-CH_2NH-$, $-CH_2S-$, $-CH_2=CH_2-$, $-CH=CH-$ (*cis* e *trans*), $-COCH_2-$, $-CH(OH)CH_2-$ e $-CH_2SO-$, por métodos conhecidos na técnica e descritos adicionalmente nas seguintes referências: Spatola, A. F. em "Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins", B. Weinstein, eds., Marcel Dekker, Nova York, p. 267 (1983); Spatola, A. F., *Vega Data* (março de 1983), Vol. 1, Exemplar

3, "PEPTIDE BACKBONE MODIFICATIONS" (revisão geral); Morley, *Trends Pharm. Sci.* (1980) pp. 463-468 (revisão geral); Hudson, D. e cols., *Int. J. Pept. Prot. Res.* 14: 177-185 (1979): (-CH₂NH-, CH₂CH₂-); Spatola e cols., *Life Sci.* 38: 1.243-1.249 (1986): (-CH₂-S); Hann. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 307-314 (1982): (-CH-CH-, *cis* e *trans*); Almquist e cols., *J. Med. Chem.* 23: 1.392-1.398 (1980): (-COCH₂-); Jennings-White e cols., *Tetrahedron Lett.* 23: 2.533 (1982): (-COCH₂-); Szelke e cols., *Pedido Europeu EP* 45665 CA: 97: 39.405 (1982) (-CH(OH)CH₂); Holladay e cols., *Tetrahedron Lett.* 24: 4.401-4.404 (1983): (-C(OH)CH₂-); e Hruby *Life Sci.* 31: 189-199 (1982): (-CH₂-S-); cada um dos quais é aqui incorporado por referência. Em um aspecto, a ligação não peptídica é -CH₂NH-. Esses miméticos de peptídeos podem ter vantagens significativas em relação às modalidades de polipeptídeos, incluindo, por exemplo: produção mais econômica, maior estabilidade química, propriedades farmacológicas aprimoradas (meia-vida, absorção, potência, eficácia etc.), especificidade alterada (por exemplo, um espectro amplo de atividades biológicas), antigenicidade reduzida, e outras. A marcação de peptidomiméticos normalmente envolve a adesão covalente de um ou mais marcadores, diretamente ou através de um espaçador (por exemplo, um grupo amida), em posições não interferentes no peptidomimético que são previstas por dados quantitativos de estrutura-atividade e/ou modelagem molecular. Essas posições não interferentes geralmente são posições que formam contatos diretos com as macromoléculas (por exemplo, moléculas da superfamília das imunoglobulinas) às quais o peptidomimético se liga para

produzir o efeito terapêutico. A derivatização (por exemplo, marcação) de peptidomiméticos não deve interferir substancialmente com a atividade biológica ou farmacológica desejada do peptidomimético. Geralmente, os peptidomiméticos de peptídeos de ligação ao receptor se ligam ao receptor com alta afinidade e possuem atividade biológica detectável (ou seja, são agonistas ou antagonistas para uma ou mais mudanças fenotípicas mediadas por receptor).

10 A substituição sistemática de um ou mais aminoácidos de uma seqüência de consenso com um D-aminoácido do mesmo tipo (por exemplo, D-lisina no lugar de L-lisina) pode ser usada para gerar peptídeos mais estáveis. Observa-se que são desejadas substituições de D-aminoácidos nas quais a
15 atividade imunológica do peptídeo é mantida.

Descrição

Como aqui descrito, os inventores identificaram peptídeos inéditos que possuem e/ou que compreendem a seqüência de aminoácidos mostrada na TABELA 1 ou um
20 análogo, derivado ou variante das seqüências de aminoácidos aqui reveladas. Os inventores também demonstraram que um peptídeo que possui ou que compreende uma das seqüências de aminoácidos da TABELA 1 e um terminal C aminado possui utilidade terapêutica no aumento da imunidade inata. Em
25 particular, os inventores demonstraram que um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 não possuía eficácia antimicrobiana contra *S. aureus*, embora fornecesse proteção *in vivo* em camundongos infectados com *S. aureus*. O peptídeo aumentou a resposta do hospedeiro à
30 infecção, resultando em aumento da depuração bacteriana e

da sobrevivência do hospedeiro. Dessa forma, os peptídeos inéditos descritos podem ser usados como uma substância terapêutica para o tratamento de uma doença infecciosa. Em outra modalidade, demonstrou-se que os peptídeos da invenção reduzem a atividade de DPPIV, o que, conforme comprovado, está relacionado a diversos distúrbios relacionados ao sistema imunológico como, por exemplo, AIDS e progressão da doença pelo HIV (Blazquez e cols. 1992; Vanham e cols. 1993; Schols e cols. 1998 Oravec e cols. 1995), doença de Graves (Eguchi e cols. 1989; Nishikawa e cols. 1995) e câncer (Stecca e cols. 1997), por exemplo, câncer do pulmão e do cólon, e diabetes (Hinke e cols. 2000; Marguet e cols. 2000). Além disso, demonstrou-se que DPPIV como indicador de ativação de células T flutua em paralelo com várias doenças autoimunes como, por exemplo, artrite reumatóide (Nakao e cols., 1989) e tireoidite autoimune (Eguchi e cols., 1989). DPPIV foi descrita como marcador que apresenta boa correlação com o nível de atividade dessas doenças. Foi ainda estudada como indicador de progressão da doença na esclerose múltipla crônica progressiva (Constantinescu e cols., 1995). Os peptídeos da invenção podem ser usados no tratamento dessas condições.

Peptídeos da invenção

Conseqüentemente, a presente invenção fornece peptídeos isolados que possuem ou que compreendem a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante imunologicamente ativo desta. Também são fornecidos sais farmacologicamente aceitáveis, sais de adição ácida e ésteres dos peptídeos, análogos, derivados, e variantes da invenção, incluindo aqueles aqui descritos,

como, por exemplo, uma substituição conservadora e modificações do terminal C e N, e modificações da estrutura básica, como aqui descritas. Como aqui usado, um peptídeo "isolado" da invenção é um peptídeo que não tem uma
5 contraparte de ocorrência natural ou que foi separado ou purificado de componentes que naturalmente o acompanham. Um peptídeo isolado da invenção pode ser obtido, por exemplo, por expressão de um ácido nucléico recombinante que codifica o peptídeo, ou por síntese química. Como um
10 peptídeo sintetizado quimicamente é, por sua natureza, separado dos componentes que naturalmente o acompanham, o peptídeo sintético é "isolado".

Em um aspecto, o peptídeo isolado da invenção compreende a seqüência de aminoácidos que possui a fórmula:
15 "X₁X₂P" (ID. DE SEQ. N°: 55), em que: X₁ é selecionado do grupo que consiste nos compostos baseados em K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr ou glicina com grupos funcionais básicos substituídos no terminal N (por exemplo, Nlys), hSer, Val(betaOH) ou, em outra modalidade, é selecionado do
20 grupo que consiste em K, R, S, O e Cit ou, em outra modalidade, selecionado do grupo que consiste em K, R e S, ou é R; e em que X₂ é selecionado do grupo que consiste em V, I, K, P e H. Em uma modalidade, o peptídeo isolado da invenção é do ID. DE SEQ. N°: 55. Em outro aspecto, ele é
25 um peptídeo de até 10 aminoácidos, compreendendo uma seqüência de aminoácidos do ID. DE SEQ. N°: 55. Em uma modalidade, o peptídeo isolado do ID. DE SEQ. N°: 55 é dos IDS. DE SEQ. N°s: 8, 9, 26, 39, 40, 41 e 45-53, ou um peptídeo isolado de até 10 aminoácidos compreendendo as
30 referidas seqüências. Em outra modalidade, o peptídeo

isolado que compreende o ID. DE SEQ. N°: 55 é o ID. DE SEQ. N°: 44, que é de até 13 aminoácidos.

Em outra modalidade, a invenção fornece um peptídeo isolado que compreende a fórmula, "X₁X₂X₃P" (ID. DE SEQ. N°: 56), em que X₁ é selecionado do grupo que consiste nos compostos baseados em K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr ou glicina com grupos funcionais básicos substituídos no terminal N (por exemplo, Nlys), hSer, Val(betaOH) ou, em outra modalidade, selecionado do grupo que consiste em K, H, R, S, T e O ou, em outra modalidade, K, H, R, S e T, ou, em outra modalidade, K, H, R, S e O, ou, em outra modalidade, R, H, K e S; e em que X₂ é selecionado do grupo que consiste em A, I, L, V, K, P, G, H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle, e em que X₂ pode ser metilado no N ou, em outra modalidade, selecionado do grupo que consiste em A, I, L, V, K, P, G, H e R, em que ele pode ser metilado no N; e em que X₃ é selecionado do grupo que consiste em I, V, P, em que, em uma modalidade, X₃ não é metilado no N. Em uma modalidade, o peptídeo isolado pode ser uma sequência de aminoácidos de até 10 aminoácidos, que compreende o ID. DE SEQ. N°: 56, incluindo os IDS. DE SEQ. N°s: 1, 3-7, 10-16, 18, 21-25, 27, 28, 31-39, 42, 43 ou 47, ou um peptídeo isolado de até 11 aminoácidos que compreende o ID. DE SEQ. N°: 54. No entanto, em uma modalidade, quando o ID. DE SEQ. N°: 56 for um hexâmero, ele não será o ID. DE SEQ. N°: 2 ou, em uma modalidade, quando ele for um pentâmero, ele não será o ID. DE SEQ. N°: 17. Em uma modalidade, o peptídeo isolado da invenção não compreende um peptídeo que compreende os IDS. DE SEQ. N°s: 2 ou 17.

Em outra modalidade, a invenção fornece um peptídeo

isolado compreendendo o peptídeo que compreende a fórmula do ID. DE SEQ. N°: 56 em um pentâmero ou hexâmero. Em uma modalidade, o referido peptídeo é imunologicamente ativo.

Em uma modalidade, o peptídeo isolado da invenção
5 compreende um peptídeo de fórmula, "aX₁X₂X₃P" (ID. DE SEQ. N°: 57), em que X₁, X₂ e X₃ são como definidos para o ID. DE SEQ. N°: 56, e em que "a" é selecionado do grupo que consiste em S, P, I, R, C, T, L, V, A, G, K, H, R, O, C, M e F ou, em outra modalidade, é selecionado do grupo que
10 consiste em, S, P, I, R, C, T, L, V, A, G, K, H, R, O, C e M ou, em outra modalidade, é selecionado do grupo que consiste em, S, P, I, R e C ou, em outra modalidade, é S. Em uma modalidade, o peptídeo isolado compreende o ID. DE SEQ. N°: 57, ou é um peptídeo de até 10 aminoácidos que
15 compreende a referida seqüência. Em outra modalidade, o peptídeo isolado é dos IDS. DE SEQ. N°s: 4, 47, ou quando for um hexâmero, o ID. DE SEQ. N°: 39, ou um peptídeo isolado de até 10 aminoácidos compreendendo as referidas seqüências.

20 Em outra modalidade, o peptídeo isolado da invenção compreende um peptídeo de fórmula, "X₁X₂X₃Pb" (ID. DE SEQ. N°: 58), em que X₁X₂X₃ são como definidos no ID. DE SEQ. N°: 56 e "b" é selecionado do grupo que consiste em A, A*, G, S, L, F, K, C, I, V, T, Y, R, H, O e M, mas em uma
25 modalidade não é P ou, em outra modalidade, é selecionado do grupo que consiste em A, A*, G, S, L, F e K ou, em outra modalidade, é selecionado do grupo que consiste em A, A*, G, S, L, K e C ou, em uma modalidade, é selecionado do grupo que consiste em A, A*, G, S, L e K; em que A* representa um aminoácido D de Alanina. Em uma modalidade, o
30

peptídeo isolado é um aminoácido de até 10 aminoácidos, compreendendo o ID. DE SEQ. N°: 58. Em uma modalidade, o peptídeo isolado é ou compreende os IDS. DE SEQ. N°s: 5 - 8, 10, 11, 13-16, 21-25, 27, 28, 31, 33-38 e 42-43. Em
5 outra modalidade, o peptídeo é do ID. DE SEQ. N°: 58, em que "b" não é P ou Y, ou não é RIVPP (ID. DE SEQ. N°: 17); ou em que X₃ não é G ou não é RIGPA, ou X₃ não é Vx ou não é RIVxPA.

Em uma modalidade, o peptídeo isolado da invenção é ou
10 compreende um peptídeo similar ao ID. DE SEQ. N°: 58, mas em que X₁ é selecionado do grupo que consiste em G, GG ou Cit, ou em que "b" é A, X₂ é I, X₃ é V, X₁ é G, GG, ou Cit, ou o peptídeo é dos IDS. DE SEQ. N°s: 19, 20 e 36. Em uma modalidade, o peptídeo isolado compreende o ID. DE SEQ. N°:
15 31. Em outra modalidade, o peptídeo isolado compreende uma sequência reversa do ID. DE SEQ. N°: 58, ou compreende o ID. DE SEQ. N°: 30.

Em uma modalidade, o peptídeo isolado da invenção é ou
compreende um peptídeo que possui a sequência de
20 aminoácidos do ID. DE SEQ. N°: 29.

O peptídeo da invenção também fornece um peptídeo isolado que compreende a fórmula, "a₁a₂ X₁X₂X₃P" (ID. DE SEQ. N°: 59), em que X₁, X₂ e X₃ são como definidos no ID. DE SEQ. N°: 56 e a₁ é selecionado do grupo que consiste em
25 K, I R, H, O, L, V, A e G ou, em uma modalidade, K e I, ou em uma modalidade K e a₂ são selecionados do grupo que consiste em S, P, R T, H, K, O, L, V, A, G, S e I ou, em uma modalidade, S, P e R ou, em outra modalidade, S e P ou, em outra modalidade, P. Em uma modalidade, a₁ não é
30 acetilado, ou quando a₁ for K, K não será acetilado ou não

será o ID. DE SEQ. N°: 2. Em uma modalidade, o peptídeo isolado é ou compreende os IDS. DE SEQ. N°s: 1 e 47 ou um peptídeo de até 10 aminoácidos compreendendo o ID. DE SEQ. N°: 59.

5 Em outra modalidade, o peptídeo isolado da invenção é ou compreende um peptídeo da fórmula, "a X₁X₂X₃Pb" (ID. DE SEQ. N°: 60), em que X₁, X₂ e X₃ são como definidos no ID. DE SEQ. N°: 56 e em que "a" é selecionado do grupo que consiste em S, R, K, H, O, T, I, L, V, A, G ou, em outra
10 modalidade, S, R e I ou, em outra modalidade, S e R, e em que "b" é selecionado do grupo que consiste em A, V, I, L, G, K, H, R, O, S, T, F ou, em outra modalidade, A. Em outra modalidade, o peptídeo do ID. DE SEQ. N°: 60 é dos IDS. DE SEQ. N°s: 3, 12 e 39, ou um peptídeo de até 10 aminoácidos
15 compreendendo o ID. DE SEQ. N°: 60 ou os IDS. DE SEQ. N°s: 3, 12 ou 39.

Como aqui usado, um "peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos de uma seqüência da TABELA 1" ou um "peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos de
20 uma seqüência da TABELA 1" inclui o próprio peptídeo, equivalentes químicos óbvios deste, isômeros deste (por exemplo, isômeros, estereoisômeros, retro-isômeros, retro-inverso isômeros, todos os isômeros [D], todos os isômeros [L], ou isômeros mistos [L] e [D] deste), substituições
25 conservadoras nele, formas precursoras deste, formas endoproteoliticamente processadas deste, por exemplo, clivagem de aminoácidos únicos dos terminais N ou C ou metabólitos imunologicamente ativos dos peptídeos da invenção, sais farmaceuticamente aceitáveis e ésteres
30 deste, e outras formas resultantes de modificação pós-

tradução. Também está incluída qualquer seqüência parente, até, e incluindo, 10, 9, 8, 7, 6, 5 e 4 aminoácidos de comprimento (ciclizados ou lineares, ou ramificados da seqüência parente central), para a qual a seqüência especificada é uma subsequência. Aqueles habilitados na técnica observarão que, quando o peptídeo na tabela for um trímero, ele poderá ser uma subsequência de um 10, 9, 8, 7, 6, 5 e 4-mer, enquanto, se o peptídeo listado na TABELA 1 for um hexâmero, ele poderá ser uma subsequência de um 10, 9, 8, e 7 mer, mas não um 5 ou 4-mer. Além disso, a invenção compreende seqüências que são maiores do que 10-mer, os IDS. DE SEQ. N^{os}: 44 e 54. Aqueles peptídeos modificados que retêm a atividade imunológica dos peptídeos da invenção são englobados dentro do escopo da presente invenção.

Ainda como aqui usado, um "equivalente químico óbvio" de um peptídeo da invenção é uma molécula que possui a mesma atividade desejada, por exemplo, atividade imunológica, como os peptídeos aqui descritos, e exibe uma química trivial diferente, ou uma molécula que é convertida, sob condições brandas, em um peptídeo da invenção (por exemplo, ésteres, éteres, produtos de redução e complexos dos peptídeos da invenção).

Adicionalmente, como aqui usadas, "substituições conservadoras" são aquelas substituições de aminoácidos que são funcionalmente equivalentes ao resíduo de aminoácido substituído, tanto por terem polaridade ou arranjo estérico similar, quanto por pertencerem à mesma classe que o resíduo substituído (por exemplo, hidrofóbico, ácido ou básico). O termo "substituições conservadoras", como aqui

definido, inclui substituições que possuem um efeito insignificante sobre a habilidade do peptídeo da invenção para aumentar a imunidade inata. Exemplos de substituições conservadoras incluem a substituição de um resíduo polar (hidrofílico) por outro (por exemplo, arginina/lisina, glutamina/asparagina ou treonina/serina); a substituição de um resíduo apolar (hidrofóbico) (por exemplo, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina ou valina) por outro; a substituição de um resíduo ácido (por exemplo, ácido aspártico ou ácido glutâmico) por outro; ou a substituição de um resíduo básico (por exemplo, arginina, histidina, lisina ou ornitina) por outro.

O termo "análogo", como aqui usado, inclui qualquer peptídeo que possui uma sequência de aminoácidos substancialmente idêntica a uma sequência aqui descrita, em que pelo menos um resíduo foi substituído conservadoramente com um resíduo funcionalmente similar. Um "análogo" tem 60% ou mais (preferivelmente, 70% ou mais, 80% ou mais, 85% ou mais, 90% ou mais, 95% ou mais, ou 99%) de homologia de sequência de aminoácidos com uma sequência de aminoácidos da TABELA 1, e é um variante funcional desta. Ainda como aqui usado, o termo "variante funcional" refere-se à atividade de um peptídeo que demonstra uma habilidade para aumentar a imunidade inata ou reduzir a atividade de DPPIV, como aqui descrito. Um "análogo" inclui uma variante de um aminoácido da TABELA 1 que possui uma conformação tridimensional homóloga. Um "análogo" ainda inclui qualquer sal farmacêuticamente aceitável de um análogo, como aqui descrito. Uma "variante" ainda inclui qualquer sal farmacêuticamente aceitável de uma variante, como aqui

descrito.

Um "derivado", como aqui usado, refere-se a um peptídeo da invenção que possui um ou mais aminoácidos quimicamente derivatizados por reação de um grupo lateral funcional. Moléculas derivatizadas exemplares incluem, sem limitação, moléculas de peptídeos nas quais grupos amino livres foram derivatizados para formar sais ou amidas, por adição de grupos acetil, cloridratos de amina, grupos carbobenzoxi, grupos cloroacetil, grupos formil, grupos p-tolueno sulfonil ou grupos t-butiloxicarbonil. Grupos hidroxil livres podem ser derivatizados para formar derivados O-acil ou O-alkil. Além disso, grupos carboxil livres podem ser derivatizados para formar sais, ésteres (por exemplo, metil e etil ésteres) ou hidrazidas. Dessa forma, um "derivado" ainda inclui qualquer sal farmacologicamente aceitável de um derivado, como aqui descrito.

Em uma modalidade da presente invenção, o peptídeo isolado da invenção tem um terminal C modificado e/ou um terminal N modificado. Por exemplo, o peptídeo isolado pode ter um terminal C amidado. Por exemplo, o terminal amino pode ser acetilado (Ac), ou o terminal carboxi pode ser amidado (NH_2). No entanto, em uma modalidade da invenção, os peptídeos da invenção preferivelmente não são acetilados caso essa modificação resulte na perda da atividade imunológica desejada. Modificações do terminal amino incluem metilação (ou seja, $-\text{NHCH}_3$ ou $-\text{NH}(\text{CH}_3)_2$), acetilação, adição de um grupo carbobenzoil, ou bloqueio do terminal amino com qualquer grupo de bloqueio que contenha uma funcionalidade carboxilato definida por RCOO^- , em que R

é selecionado do grupo que consiste em naftil, acridinil, esteroidil e grupos similares. As modificações do terminal carbóxi incluem a substituição do ácido livre por um grupo carboxamida, ou a formação de uma lactama cíclica no terminal carbóxi para introduzir restrições estruturais.

Em uma modalidade, podem ser feitas substituições da estrutura básica como, por exemplo, NH por NCH₃. O peptídeo isolado também pode ser uma modificação (por exemplo, uma mutação pontual, por exemplo, uma inserção ou uma eliminação ou um truncamento) de, ou que compreende, uma sequência de aminoácidos da TABELA 1. Como exemplo, o peptídeo pode compreender uma sequência de aminoácidos da TABELA 1 modificada por pelo menos uma inserção pontual de um aminoácido D, desde que a atividade imunológica desejada seja mantida. Em particular, podem ser empregados análogos de prolina nos quais o tamanho do anel do resíduo de prolina é trocado de 5 membros para 4, 6 ou 7 membros. Grupos cíclicos podem ser saturados ou insaturados e, se insaturados, podem ser aromáticos ou não aromáticos.

Podem-se substituir as cadeias laterais de ocorrência natural dos aminoácidos geneticamente codificados (ou D aminoácidos) com outras cadeias laterais com propriedades similares, por exemplo, com grupos como alquil, alquil inferior, alquil cíclico de 4, 5, 6 a 7 membros, amida, amida alquil inferior, amida di(alquil inferior), alcóxi inferior, hidróxi, carbóxi e os derivados de éster inferior destes e com heterocíclico 4, 5, 6, a 7 membros.

Tais substituições podem incluir, mas não se limitam necessariamente a: (1) aminoácidos carregados positivamente não padronizados, como: ornitina, Dab; ácido 2,4-

diaminobutírico, que é semelhante à ornitina menos um grupo metileno (ou lisina menos dois grupos metileno), Dpr ou Dapa; ácido 2,3-diaminopropiônico, que é semelhante à ornitina menos dois grupos metileno (ou lisina menos três grupos metileno, ou serina com um grupo amino ao invés de hidroxil), Nlys; N-(4-aminobutil)-glicina, que tem a cadeia lateral lisina anexada ao "terminal N", e compostos com grupos aminopropil ou aminoetil anexados ao grupo amino da glicina. (2), aminoácidos de ocorrência não natural, como arginina, sem carga, como, Cit; citrulina e Hci; citrulina com mais um grupo metileno; (3) aminoácidos de ocorrência não natural não padronizados com OH (como, por exemplo, serina), por exemplo, hSer; homoserina (mais um grupo metileno, Hyp; hidroxiprolina, Val(betaOH); hidroxivalina, Pen; penicilamina, (Val(betaSH); (4) derivados de prolina como, por exemplo, D-Pro, por exemplo, 3,4-dehidroprolina, Pyr; piroglutamina (prolina com C=O no anel), prolina com substituições de flúor no anel, ácido 1,3-tiazolidina-4-carboxílico (prolina com S no anel); (5) derivado de histidina como, por exemplo, Thi; beta-(2-tienil)-alanina; ou (6) derivados de alquil como, por exemplo, Abu; ácido 2-aminobutírico (grupo etil no C-alfa), Nva; norvalina (grupo propil no C-alfa), Nle; norleucina (grupo butil no C-alfa), Hol; homoleucina (grupo propil no C-alfa), Aib, ácido alfa-aminoisobutírico (valina sem grupo metileno). Aqueles habilitados na técnica observarão que essas substituições retêm a atividade imunológica do peptídeo/seqüência parente.

Em outra modalidade alternativa, o grupo carboxil do terminal C ou um éster do terminal C pode ser induzido a

ciclar por deslocamento interno do -OH ou do éster (-OR) do grupo carboxil ou éster, respectivamente, com o grupo amino do terminal N, para formar um peptídeo cíclico. Por exemplo, após síntese e clivagem para gerar o peptídeo 5 ácido, o ácido livre é convertido em um éster ativado por um ativador de grupo carboxil apropriado como, por exemplo, diciclohexilcarbodiimida (DCC) em solução, por exemplo, em misturas de cloreto de metileno (CH_2Cl_2), dimetil formamida (DMF). O peptídeo cíclico é então formado por deslocamento 10 interno do éster ativado com a amina do terminal N. A ciclicização interna, ao contrário da polimerização, pode ser intensificada pelo uso de soluções muito diluídas. Esses métodos são bem conhecidos na técnica.

Pode-se também ciclar os peptídeos da invenção, ou 15 incorporar um resíduo desamino ou descarboxi nos terminais do peptídeo, de forma que não haja amino terminal ou grupo carboxil, para diminuir a suscetibilidade às proteases, ou para restringir a conformação do peptídeo. Grupos funcionais do terminal C dos compostos da presente invenção 20 incluem amida, amida alquil inferior, amida di(alquil inferior), alcóxi inferior, hidróxi e carbóxi, e os derivados de éster inferior destes, e os sais farmacologicamente aceitáveis destes.

Pode-se também ciclar o peptídeo por adição de uma 25 cisteína no terminal N e/ou C, e ciclar o peptídeo através de ligações dissulfeto ou outras interações da cadeia lateral.

Pode-se também incorporar um resíduo desamino ou 30 descarboxi nos terminais do peptídeo, de forma que não haja amino terminal ou grupo carboxil, para diminuir a

suscetibilidade às proteases, ou para restringir a conformação do peptídeo.

Método de produção dos peptídeos

A presente invenção contempla peptídeos, incluindo
5 análogos de peptídeos; derivados e variantes, que são produzidos sinteticamente, gerados de forma recombinante, ou isolados de células nativas. Um peptídeo da invenção pode ser sintetizado por métodos comumente conhecidos por aqueles habilitados na técnica (por exemplo, como descrito
10 em "Modern Techniques of Peptide and Amino Acid Analysis" (Nova York: John Wiley & Sons, 1981) e Bodansky, M., "Principles of Peptide Synthesis" (Nova York: Springer-Verlag N.Y., Inc., 1984)). Exemplos de métodos que podem ser empregados na síntese dos peptídeos da invenção
15 incluem, sem limitação, síntese peptídica de fase sólida, síntese peptídica em solução ou por método líquido, e síntese com o uso de qualquer um dos sintetizadores peptídicos disponíveis comercialmente. Em uma modalidade, um peptídeo da invenção é sintetizado *in vitro*, por
20 exemplo, por meios químicos, ou tradução de mRNA *in vitro*. Em outra modalidade, um peptídeo da invenção é produzido de forma recombinante, com o uso de técnicas convencionais e cDNA que codifica o peptídeo. As seqüências de aminoácidos da presente invenção podem ainda compreender agentes de
25 acoplamento e grupos de proteção que são usados na síntese de seqüências peptídicas, e que são bem conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

Análogos, derivados e variantes de peptídeos da invenção podem ser feitos por uma ampla variedade de
30 diferentes técnicas de mutagênese bem conhecidas por

aqueles habilitados na técnica. Essas técnicas podem ser encontradas em qualquer manual de laboratório de biologia molecular, incluindo, por exemplo, Sambrook e cols., "Molecular Cloning - A Laboratory Manual", 2ª ed. (Plainview, NY: Cold Spring Harbor Press, 1989); ou Ausubel e cols., "Current Protocols in Molecular Biology" (John Wiley & Sons). Também estão disponíveis kits de mutagênese por vários fornecedores comerciais de suprimentos de biologia molecular. Estão disponíveis métodos para a realização de mutagênese sítio-dirigida, regioespecífica ou aleatória, na seqüência de aminoácidos inicial. Após a produção dos análogos, derivados e variantes, eles podem ser pesquisados quanto à habilidade desejada para aumentar a imunidade inata, como aqui descrito.

15 Agentes que reagem com o peptídeo

A presente invenção ainda fornece um agente reativo com um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta. Como aqui usado, "reativo" significa que o agente possui afinidade, se liga ou é dirigido contra o peptídeo da invenção. Ainda como aqui usado, um "agente" deve incluir uma proteína, um polipeptídeo, um peptídeo, um ácido nucléico (incluindo DNA ou RNA), um anticorpo de ocorrência não natural, um fragmento Fab, um fragmento $F(ab')_2$, uma molécula, um composto, um antibiótico, um fármaco, e quaisquer combinações destes. Um fragmento Fab é um fragmento de ligação de antígeno univalente de anticorpo, que é produzido por digestão com papaína. Um fragmento $F(ab')_2$ é um fragmento de ligação de antígeno divalente de um anticorpo, que é produzido por digestão com pepsina. De

preferência, o agente da presente invenção é marcado com um marcador ou rótulo detectável. Um "anticorpo de ocorrência não natural" significa um anticorpo que é gerado com o peptídeo associado a outro composto, por exemplo, dois
5 resíduos de glicina do terminal C e MAPS. O antígeno MAPS é anexado ao peptídeo da presente invenção por meio de 2 resíduos de glicina inseridos no terminal C do peptídeo. A construção pode então ser administrada a um animal, por exemplo, um coelho, e o anticorpo coletado com o uso de
10 procedimentos bem conhecidos na técnica.

Em uma modalidade da presente invenção, o agente reativo com o peptídeo da invenção é um anticorpo. Como aqui usado, o anticorpo da presente invenção pode ser policlonal ou monoclonal. Além disso, o anticorpo da
15 presente invenção pode ser produzido por técnicas bem conhecidas para aqueles habilitados na técnica. O anticorpo policlonal, por exemplo, pode ser produzido por imunização de um camundongo, coelho ou rato com um peptídeo da invenção purificado. O anticorpo monoclonal pode então ser
20 produzido por remoção do baço do animal imunizado, e fundindo-se as células esplênicas com células de mieloma, para formar um hibridoma, o qual, quando desenvolvido em cultura, produzirá um anticorpo monoclonal. Veja, por exemplo, J.G.R. Hurrel, "Monoclonal Hybridoma Antibodies:
25 Techniques and Applications" (Boca Raton, FL: CRC Press Inc., 1982).

O anticorpo da invenção pode ser marcado com um marcador ou rótulo detectável. A marcação de um anticorpo pode ser obtida com o uso de uma dentre diversas técnicas
30 de marcação, incluindo peroxidase, marcadores

quimioluminescentes conhecidos na técnica, e marcadores radioativos conhecidos na técnica. O marcador ou rótulo detectável da presente invenção pode ser, por exemplo, um marcador não radioativo ou fluorescente como, por exemplo, biotina, fluoresceína (FITC), acridina, colesterol ou carbóxi-X-rodamina, que pode ser detectado com o uso de fluorescência e outras técnicas de imagem facilmente conhecidas na técnica. Alternativamente, o marcador ou rótulo detectável pode ser um marcador radioativo incluindo, por exemplo, um radioisótopo. O radioisótopo pode ser qualquer isótopo que emita radiação detectável como, por exemplo, ^{35}S , ^{32}P , ^{125}I , ^3H ou ^{14}C . A radioatividade emitida pelo radioisótopo pode ser detectada por técnicas bem conhecidas na técnica. Por exemplo, a emissão gama do radioisótopo pode ser detectada com o uso de técnicas de imagem gama, particularmente imagens cintigráficas. De preferência, o agente da presente invenção é um anticorpo de alta afinidade marcado com um marcador ou rótulo detectável.

20 Moléculas de ácido nucléico isolado

Além disso, a presente invenção fornece uma molécula de ácido nucléico isolado que codifica um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta, incluindo um peptídeo conjugado (por exemplo, uma construção transportadora de peptídeo) ou outro peptídeo, ou um pró-peptídeo que metaboliza ou cliva em um peptídeo imunologicamente ativo da TABELA 1. Em função da degeneração do código genético, a molécula de ácido nucléico da invenção inclui diversas substituições de ácidos nucléicos que também codificarão um

peptídeo da invenção. A presente invenção ainda fornece um ácido nucléico que hibridiza para a molécula de ácido nucléico isolado que codifica uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta.

5 As moléculas de ácido nucléico da presente invenção podem ser DNA ou RNA. Elas podem ser preparadas por várias técnicas conhecidas por aqueles habilitados na técnica que incluem, sem limitação, a síntese automatizada de oligonucleotídeos com o uso de sintetizadores de
10 oligonucleotídeos disponíveis comercialmente como, por exemplo, o sintetizador Applied Biosystems Modelo 392 DNA/RNA. Além disso, as moléculas de ácido nucléico da presente invenção podem ser marcadas com um ou mais marcadores ou rótulos detectáveis. A marcação das moléculas
15 de ácido nucléico pode ser obtida com o uso de diversos métodos conhecidos na técnica - por exemplo, tradução *nick*, marcação de extremidade, marcação de extremidade *fill-in*, reação de troca de polinucleotídeo quinase, *random priming*, ou SP6 polimerase (para preparação de *riboprobe*) -
20 juntamente com um dentre vários marcadores - por exemplo, marcadores radioativos como, por exemplo, ^{35}S , ^{32}P ou ^3H , ou marcadores não radioativos como, por exemplo, biotina, fluoresceína (FITC), acridina, colesterol ou carbóxi-X-rodamina (ROX).

25 A presente invenção também fornece uma construção de ácido nucléico recombinante que compreende uma molécula de ácido nucléico da invenção ligada operacionalmente a um vetor de expressão. Como aqui usado, um "vetor de expressão" é uma construção de DNA que contém uma seqüência
30 de DNA que está ligada operacionalmente a uma seqüência de

controle adequada capaz de efetuar a expressão do DNA em um hospedeiro adequado. O vetor pode ser, por exemplo, um plasmídeo, uma partícula de fago ou uma inserção genômica potencial. Ainda como aqui usado, o termo "ligado

5 operacionalmente" descreve um relacionamento funcional entre duas regiões de DNA. Vetores de expressão adequados para uso na presente invenção compreendem pelo menos um elemento de controle de expressão (por exemplo, operador, promotor, sistema lac, sequência-líder, códon de terminação

10 e/ou sinal de poliadenilação) ligado operacionalmente à molécula de ácido nucléico que codifica um peptídeo da invenção. Em uma modalidade, o vetor de expressão é um vetor de expressão eucariótico que funciona em células eucarióticas (por exemplo, um vetor retroviral, um vetor do

15 vírus da vacínia, um vetor de adenovírus, um vetor do vírus do herpes ou um vetor do vírus *fowl pox*).

Uma vez ligado operacionalmente a uma molécula de ácido nucléico da invenção, o vetor de expressão pode ser introduzido em uma célula receptora por qualquer meio *in*

20 *vivo* ou *ex vivo* adequado para transferência de ácido nucléico, incluindo, sem limitação, eletroporação, transfecção com DEAE Dextrana, transfecção com fosfato de cálcio, lipofecção, fusão de lipossomo monocatiônico, fusão de lipossomo policatiônico, fusão de protoplasto, criação

25 de um campo elétrico *in vivo*, bombardeamento de microprojétil revestido com DNA, injeção com vírus com replicação recombinante defeituosa, recombinação homóloga, vetores virais, transferência de DNA *naked*, ou qualquer combinação destas. Vetores virais recombinantes adequados

30 para transferência de ácido nucléico incluem, sem

limitação, vetores derivados dos genomas de vírus como, por exemplo, retrovírus, HSV, adenovírus, vírus adeno-associado, vírus Semiliki Forest, citomegalovírus e vírus da vacínia.

5 A presente invenção ainda fornece pelo menos uma célula hospedeira que compreende a construção de ácido nucléico recombinante da invenção. A célula hospedeira da invenção é transformada com a construção de ácido nucléico aqui descrita. A célula hospedeira pode ser eucariótica
10 (por exemplo, uma célula de animal, planta, inseto ou levedura) ou procariótica (por exemplo, *E. coli*).

Além disso, a presente invenção fornece um método para a produção de um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou de um análogo, derivado ou
15 variante desta. O método compreende as etapas de: (a) o cultivo de pelo menos uma célula hospedeira que compreende uma construção de ácido nucléico recombinante, como aqui descrito, sob condições que permitem a expressão do peptídeo; e (b) recuperação do peptídeo dessa célula
20 hospedeira ou do meio de cultura desta. O peptídeo recombinante pode ser recuperado como um lisado bruto; ele também pode ser purificado por procedimentos padronizados de purificação de proteínas conhecidos na técnica, incluindo, sem limitação, cromatografia por afinidade e
25 imunoafinidade, precipitação diferencial, eletroforese em gel, cromatografia por troca iônica, focalização isoelétrica, cromatografia por exclusão de tamanho, e semelhantes.

Composição farmacêutica

30 A presente invenção ainda fornece uma composição

farmacêutica que compreende um peptídeo compreendendo uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou IDS. DE SEQ. Nºs: 1, 3-16 ou 18-60, ou um análogo, derivado ou variante desta (que inclui seu sal farmaceuticamente aceitável, sal de
5 adição ácida ou éster de qualquer um dos citados anteriormente), em combinação com pelo menos um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável. O veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável deve ser "aceitável" no sentido de ser compatível com os
10 outros ingredientes da composição, e não ser prejudicial ao seu receptor. Exemplos de veículos, diluentes e excipientes farmacêuticos aceitáveis incluem, sem limitação, carboximetil celulose, celulose cristalina, glicerina, goma arábica, lactose, estearato de magnésio, metil celulose,
15 pós, soro fisiológico, alginato de sódio, sacarose, amido, talco e água, dentre outros. As formulações da composição farmacêutica da invenção, como aqui descritas, podem ser convenientemente apresentadas em dosagem unitária.

Usos

20 Os peptídeos da invenção demonstraram ter utilidade terapêutica no aumento da imunidade inata. O aumento da imunidade inata é demonstrado pela ausência de atividade antimicrobiana (Exemplo 2) e pela proteção contra infecção em modelos *in vivo* (Exemplos 3 e 4), e também pelos ensaios
25 de DPPIV do Exemplo 5. Conseqüentemente, a presente invenção também fornece um método para tratamento e/ou prevenção de infecção em um indivíduo. Como aqui usado, o "indivíduo" é um pássaro (por exemplo, uma galinha, peru etc.) ou um mamífero (por exemplo, uma vaca, um cachorro,
30 um ser humano, um macaco, um camundongo, um porco, um rato

etc.). Em uma modalidade, o indivíduo é um ser humano. O indivíduo pode ter, ou estar sob risco de ter, uma infecção. Como exemplo, a infecção pode ser uma infecção microbiana. Infecções microbianas que podem ser tratadas
5 pelo método da presente invenção incluem, sem limitação, infecção por uma bactéria, infecção por um fungo, infecção por um parasita e infecção por um vírus.

A maioria dos patógenos bacterianos está presente no ambiente geral, ou na flora bacteriana normal do
10 hospedeiro. As bactérias desenvolveram a habilidade para causar doença grave por aquisição de diferentes mecanismos (denominados fatores de virulência) que as permitem colonizar, se disseminar e invadir tecidos do hospedeiro. Quando esses fatores de patogenicidade são suprimidos, as
15 bactérias passam a não ser capazes de se manter nos tecidos do hospedeiro, e, portanto, não podem causar doenças. Bactérias exemplares que podem ser tratadas pelo método da presente invenção incluem, sem limitação, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*
20 spp. (por exemplo, *Salmonella typhimurium*), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. e enterococo resistente à vancomicina.

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria Gram-negativa onipresente caracterizada por sua versatilidade ambiental,
25 sua habilidade para causar doenças em indivíduos suscetíveis e sua resistência aos antibióticos. Ela é um organismo versátil que cresce no solo, pântanos e em habitats marinhos costeiros, e em tecidos de plantas e animais. A complicação mais séria da fibrose cística é a
30 infecção do trato respiratório por *P. aeruginosa*. Pacientes

com câncer e queimaduras também sofrem comumente infecções sérias por esse organismo, o que também ocorre em alguns outros indivíduos com deficiências do sistema imunológico. Diferentemente de muitas bactérias ambientais, *P. aeruginosa* tem uma capacidade notável para causar doenças em hospedeiros suscetíveis.

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva esférica, com cerca de 1 micrômetro de diâmetro, que prolifera em agrupamentos microscópicos. É um dos patógenos humanos mais importantes, causando infecções tanto adquiridas na comunidade quanto hospitalares, que variam de endocardite a pneumonia. Embora o *S. aureus* seja classificado geralmente como um patógeno extracelular, dados recentes revelaram sua habilidade para infectar vários tipos de células hospedeiras, por exemplo, tanto fagócitos profissionais quanto não fagócitos, incluindo células endoteliais, fibroblastos, e outros. Essa invasão é iniciada pela aderência de *S. aureus* à superfície celular, um processo no qual as proteínas de ligação de fibronectina estafilocócicas têm uma participação crucial. O *S. aureus* fagocitado pode tanto induzir apoptose da célula hospedeira quanto sobreviver por vários dias no citoplasma - o qual acredita-se que não possua mecanismos efetores anti-estafilocócicos.

S. aureus coloniza as passagens nasais, superfícies cutâneas, membranas mucosas e áreas em torno da boca, genitais e reto. *S. aureus* pode causar lesões cutâneas superficiais, tais como abscessos, terçóis e furúnculos. Infecções mais sérias incluem pneumonia, mastite, flebite, meningite e infecções do trato urinário; infecções

profundas incluem osteomielite e endocardite.

Fungos exemplares que podem ser tratados pelo método da presente invenção incluem, sem limitação, bolores, leveduras e fungos superiores. Todos os fungos são eucarióticos e possuem esteróis, mas não peptidoglicano, em suas membranas celulares. As infecções fúngicas, ou micoses, são classificadas de acordo com grau de envolvimento tecidual e o modo de entrada no hospedeiro. No hospedeiro imunocomprometido, diversos fungos não patogênicos, ou fungos que são normalmente inofensivos, podem causar infecções potencialmente fatais.

Parasitas são organismos que obtêm nutrientes e proteção de outros organismos vivos (conhecidos como hospedeiros). Eles podem ser transmitidos de animais para os seres humanos, de seres humanos para seres humanos ou de seres humanos para animais. Vários parasitas surgiram como causas significativas de doenças adquiridas através de alimentos e da água. Eles podem ser transmitidos de hospedeiro para hospedeiro através do consumo de alimento e água contaminados, ou através da ingestão de uma substância que tenha entrado em contato com as fezes de uma pessoa ou animal infectado. Os parasitas vivem e se reproduzem dentro dos tecidos e órgãos de hospedeiros humanos e animais infectados, e são freqüentemente excretados nas fezes. Há diferentes tipos de parasitas, variando em termos de tamanho desde organismos minúsculos, unicelulares, microscópicos (protozoários), até organismos maiores, vermes multicelulares (helminths), que podem ser observados sem um microscópio. Exemplos de parasitas comuns que podem ser tratados pelo método da presente invenção incluem, sem

limitação, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis* e *Toxoplasma gondii*.

Os vírus, diferentemente dos fungos e das bactérias, são desprovidos de muitos dos atributos das células de vida livre. Uma única partícula viral é uma estrutura estática, muito estável e incapaz de trocar ou substituir suas partes. Somente quando associado a uma célula um vírus se torna capaz de se replicar e adquirir alguns dos atributos de um sistema vivo. Os vírus causam várias doenças, incluindo infecções do trato respiratório superior (URTIs), como o resfriado comum e a faringite (dor de garganta). Outros exemplos de vírus que podem ser tratados pelo método da presente invenção incluem, sem limitação, vírus associados à AIDS, gripe aviária, varicela, lesões por herpes simples, resfriado comum, gastroenterite (especialmente em crianças), febre glandular, influenza, sarampo, caxumba, faringite, pneumonia, rubéola, SARS e infecção do trato respiratório inferior (por exemplo, vírus sincicial respiratório, ou RSV).

Os inventores demonstraram nesta invenção que peptídeos que compreendem a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou ID. DE SEQ. N°: 1, 3-16, 18-60, ou análogo, derivado, ou variante desta, ou equivalente químico óbvio desta, possuem eficácia na prevenção e/ou no tratamento de infecções. Conseqüentemente, o presente método de tratamento e/ou prevenção de infecções em um indivíduo compreende a administração ao indivíduo de um peptídeo que compreende a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou ID. DE SEQ. N°: 1, 3-16, 18-60, ou análogo, derivado ou variante desta, ou equivalente químico óbvio desta. Está incluído

dentro do escopo da presente invenção que o peptídeo da invenção pode ser ligado a outro agente ou administrado em combinação com outro agente como, por exemplo, um antibiótico (por exemplo, penicilina, metecilina ou vancomicina), a fim de aumentar a eficácia do tratamento e/ou da prevenção de infecção e/ou aumentar a eficácia de direcionamento.

Em uma modalidade da presente invenção, o peptídeo da invenção compreende a seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou ID. DE SEQ. N°: 1, 3-16, 18-60, ou análogo, derivado, ou variante desta, ou equivalente químico óbvio desta. Em outra modalidade, o peptídeo da invenção modula a imunidade inata no indivíduo tratando ou prevenindo, dessa forma, a infecção no indivíduo. A resposta imunológica inata é a resposta de primeira linha quando há o encontro com um patógeno. Ela compreende diversos mecanismos para evitar o desenvolvimento de doenças infecciosas. Um desses mecanismos envolve a preparação e o recrutamento de células imunológicas efetoras.

Em uma modalidade, os peptídeos da invenção podem aumentar a imunidade inata ou a resposta imunológica inata, ao mesmo tempo em que limitam a inflamação.

Em outra modalidade, demonstrou-se que os peptídeos da invenção são moduladores da atividade de DPPIV. Foi demonstrado que eles reduzem a atividade de DPPIV. Como tal, eles seriam úteis no rastreamento de indivíduos que poderiam se beneficiar da administração dos peptídeos para tratar uma condição imunológica específica, compreendendo a coleta de uma amostra de um indivíduo suspeito ou que sabidamente tem uma condição relacionada à DPPIV, a sua

incubação junto com um peptídeo da invenção e um substrato de DDPIV e, a seguir, o monitoramento do efeito do peptídeo sobre a atividade de DDPIV, em comparação com um controle, em que a redução da atividade indicaria o benefício potencial da administração do peptídeo ao indivíduo para tratar a condição relacionada à DPPIV. Em outra modalidade, a modulação da atividade de DPPIV na presença do peptídeo, comparada com o controle, pode ser indicativa de uma condição relacionada à DPPIV. Como tal, os peptídeos da invenção podem ser usados no diagnóstico de condições relacionadas à DPPIV. Em outro aspecto, os peptídeos da invenção seriam úteis no tratamento de diversos distúrbios imunológicos, tais como distúrbio relacionado à DPPIV, por exemplo: HIV/AIDS, doença de Grave, câncer (por exemplo, 15 câncer do pulmão e do cólon), diabetes, e distúrbios autoimunes como, por exemplo, artrite reumatóide e esclerose múltipla.

Administração

De acordo com o método da presente invenção, um peptídeo da presente invenção, como aqui descrito, pode ser administrado ao indivíduo diretamente, em uma quantidade eficaz para tratar e/ou evitar infecção no indivíduo e/ou para tratar ou evitar uma condição relacionada à DPPIV, por exemplo, uma quantidade terapêutica eficaz. Da mesma forma, 25 um peptídeo, como aqui descrito, pode ser administrado ao indivíduo indiretamente, por administração ao indivíduo de uma sequência de ácidos nucleicos que codifica o peptídeo, de uma forma que permita a expressão do peptídeo no indivíduo e em uma quantidade eficaz para tratar e/ou 30 evitar infecção.

Além disso, um peptídeo da invenção, ou uma molécula de ácido nucléico que o codifica, pode ser administrado a um indivíduo em uma quantidade eficaz para tratar a infecção no indivíduo. Como aqui usado, a frase "eficaz para tratar a infecção" significa eficaz para atenuar ou minimizar a alteração clínica ou os sintomas que resultam da infecção (por uma bactéria, fungo, parasita, vírus etc.). Por exemplo, quando o indivíduo for infectado com um micróbio, a quantidade de peptídeo (ou de ácido nucléico que o codifica) que é eficaz para tratar a infecção microbiana será aquela que pode atenuar ou minimizar os sintomas da infecção microbiana, incluindo, sem limitação, dor de cabeça, rigidez do pescoço, anorexia, náusea, vômitos, diarreia, desconforto abdominal, insuficiência renal aguda, alteração de manifestações de lesão isquêmica a múltiplos órgãos, febre e trombocitopenia. A quantidade de peptídeo (ou de ácido nucléico que o codifica) eficaz para tratar uma infecção em um indivíduo irá variar, dependendo dos fatores específicos de cada caso, incluindo o peso do indivíduo e a gravidade da condição do indivíduo. A quantidade apropriada de peptídeo (ou de ácido nucléico que o codifica) pode ser facilmente determinada por aqueles habilitados na técnica. Do mesmo modo, a quantidade eficaz para tratar uma condição relacionada à DPPIV pode variar, dependendo de diversos fatores similares conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

Da mesma forma, no método da presente invenção, um peptídeo da invenção, ou uma molécula de ácido nucléico que o codifica, também pode ser administrado a um indivíduo em risco de desenvolver uma infecção, em uma quantidade eficaz

para evitar a infecção no indivíduo. Como aqui usado, a frase "eficaz para evitar a infecção" inclui eficaz para impedir ou evitar o desenvolvimento ou a manifestação de alteração clínica ou dos sintomas que resultam da infecção (por uma bactéria, fungo, parasita, vírus etc.). A quantidade de peptídeo (ou do ácido nucléico que o codifica) eficaz para evitar uma infecção em um indivíduo irá variar, dependendo dos fatores específicos de cada caso, incluindo o sexo e o peso do indivíduo e a gravidade da condição do indivíduo, a natureza da condição, o local da infecção e o modo de administração. A quantidade apropriada de peptídeo (ou de ácido nucléico que o codifica) pode ser facilmente determinada por aqueles habilitados na técnica.

O peptídeo da invenção, ou a seqüência de ácidos nucléicos que o codifica, como aqui revelado, pode ser administrado a um indivíduo humano ou animal por procedimentos conhecidos, incluindo, sem limitação, a administração oral, administração parenteral (por exemplo, epifascial, intracapsular, intracutânea, intradérmica, intramuscular, intra-orbitária, intraperitoneal, intramedular, intra-esternal, intravascular, intravenosa, parenquimatosa ou subcutânea), administração transdérmica, administração intranasal, administração pulmonar (por exemplo, administração intratraqueal) e administração por bomba osmótica. Em uma modalidade, o método de administração é a administração parenteral, por injeção intravenosa ou subcutânea.

Para administração oral, a formulação do peptídeo (ou do ácido nucléico que o codifica) pode ser apresentada como

cápsulas, comprimidos, pós, grânulos ou como uma suspensão ou líquido. A formulação pode ter aditivos convencionais, tais como lactose, manitol, amido de milho ou amido de batata. A formulação também pode ser apresentada com
5 aglutinantes, tais como celulose cristalina, derivados de celulose, acácia, amido de milho ou gelatinas. Adicionalmente, a formulação pode ser apresentada com desintegrantes, tais como amido de milho, amido de batata, ou carboximetilcelulose sódica. A formulação pode ainda ser
10 apresentada com fosfato dibásico de cálcio anidro ou com sódio amido glicolato. Finalmente, a formulação pode ser apresentada com lubrificantes, tais como talco ou estearato de magnésio.

Para administração parenteral, o peptídeo (ou o ácido
15 nucléico que o codifica) pode ser combinado com uma solução aquosa estéril, que é preferivelmente isotônica em relação ao sangue do indivíduo. Uma formulação desse tipo pode ser preparada dissolvendo-se um ingrediente ativo sólido em água contendo substâncias fisiologicamente compatíveis
20 como, por exemplo, cloreto de sódio, glicina, e semelhantes, e que pode ter um pH tamponado compatível com as condições fisiológicas, de forma a produzir uma solução aquosa, e depois tornando-se a referida solução estéril. A formulação pode ser apresentada em recipientes unitários ou
25 multidoses como, por exemplo, ampolas ou frascos lacrados. A formulação também pode ser liberada por qualquer modo de injeção, incluindo qualquer um daqueles aqui descritos.

Para administração transdérmica, o peptídeo (ou o ácido nucléico que o codifica) pode ser combinado com
30 intensificadores da penetração cutânea como, por exemplo,

propileno glicol, polietileno glicol, isopropanol, etanol, ácido oléico, N-metilpirrolidona, e semelhantes, que aumentam a permeabilidade da pele ao peptídeo ou ao ácido nucléico, e permitem que o peptídeo ou ácido nucléico
5 penetre através da pele e entre na corrente sangüínea. A composição de intensificador e peptídeo ou ácido nucléico também pode ainda ser combinada com a substância polimérica como, por exemplo, etilcelulose, hidroxipropil celulose, etileno/vinilacetato, polivinil pirrolidona, e semelhantes,
10 para fornecer a composição na forma de gel, que pode ser dissolvido em um solvente, por exemplo, cloreto de metileno, evaporado até a viscosidade desejada, e depois aplicado ao material de forro para fornecer um emplastro. O peptídeo ou o ácido nucléico pode ser administrado por via
15 transdérmica, no local (ou próximo a ele) no indivíduo onde a infecção pode estar localizada. Alternativamente, o peptídeo ou o ácido nucléico pode ser administrado por via transdérmica em outro local diferente da área afetada, a fim de se obter administração sistêmica.

20 Para administração intranasal (por exemplo, sprays nasais) e/ou administração pulmonar (administração por inalação), as formulações do peptídeo ou do ácido nucléico, incluindo formulações em aerossol, podem ser preparadas de acordo com procedimentos bem conhecidos por aqueles
25 habilitados na técnica. Formulações em aerossol podem compreender tanto partículas sólidas quanto soluções (aquosas ou não aquosas). Nebulizadores (por exemplo, nebulizadores a jato, nebulizadores ultra-sônicos etc.) e atomizadores podem ser usados para a produção de aerossóis
30 a partir de soluções (por exemplo, com o uso de um solvente

como, por exemplo, etanol); inaladores de dose metrificada e inaladores de pó seco podem ser usados para gerar aerossóis de partículas pequenas. O tamanho desejado da partícula do aerossol pode ser obtido com o emprego de
5 qualquer um dentre vários métodos conhecidos na técnica, incluindo, sem limitação, trituração a jato, secagem por atomização e condensação por ponto crítico.

As composições farmacêuticas para administração intranasal podem ser formulações sólidas (por exemplo, um
10 pó grosseiro), e podem conter excipientes (por exemplo, lactose). Formulações sólidas podem ser administradas por um recipiente mantido próximo ao nariz, e fazendo-se uma inalação rápida através das vias nasais. As composições para administração intranasal também podem conter soluções
15 aquosas ou oleosas de spray nasal ou gotas nasais. Para uso com um vaporizador, a formulação de peptídeo ou ácido nucléico pode compreender uma solução aquosa e agentes adicionais, que incluem, por exemplo, um excipiente, um tampão, um agente de isotonicidade, um conservante ou um
20 tensoativo. Um spray nasal pode ser produzido, por exemplo, forçando-se uma suspensão ou solução do peptídeo ou do ácido nucléico através de um bocal sob pressão.

As formulações do peptídeo ou do ácido nucléico para administração pulmonar podem ser apresentadas em uma forma
25 adequada pra liberação por um dispositivo para inalação, e podem ter um tamanho de partícula eficaz para alcançar as vias aéreas inferiores dos pulmões ou os seios. Para absorção através de superfícies mucosas, incluindo a mucosa pulmonar, a formulação da presente invenção pode
30 compreender uma emulsão que inclui, por exemplo, um

peptídeo bioativo, diversas partículas submícron, uma macromolécula mucoadesiva e/ou uma fase aquosa contínua. A absorção através de superfícies mucosa pode ser obtida através de mucoadesão das partículas da emulsão.

5 As composições farmacêuticas para uso com um dispositivo de inalação de doses metrificadas podem incluir um pó finamente dividido contendo o peptídeo ou o ácido nucléico como uma suspensão em um meio não aquoso. Por exemplo, o peptídeo ou o ácido nucléico pode ser suspenso
10 em um propelente com a ajuda de um tensoativo (por exemplo, trioleato de sorbitano, lecitina de soja, ou ácido oléico). Inaladores de doses metrificadas tipicamente utilizam um gás propelente (por exemplo, um clorofluorcarbono, um hidroclorofluorcarbono, um hidrofluorcarbono ou um
15 hidrocarboneto) estocado em um recipiente (por exemplo, uma lata) como uma mistura (por exemplo, como um gás comprimido liquefeito). Inaladores necessitam de ativação durante a inspiração. Por exemplo, a ativação de uma válvula de metrificação pode liberar a mistura como um aerossol.
20 Inaladores de pó seco usam ativação pela respiração de um pó misto.

O peptídeo ou ácido nucléico da presente invenção também pode ser liberado ou distribuído por uma minibomba osmótica ou outro dispositivo de liberação programada. A
25 taxa de liberação por uma minibomba osmótica elementar pode ser modulada com um gel microporoso, de resposta rápida, disposto no orifício de liberação. Uma minibomba osmótica seria útil para o controle da liberação ou liberação direcionada, do peptídeo ou do ácido nucléico.

30 De acordo com métodos aqui descritos, o peptídeo da

invenção pode ser administrado a um indivíduo por introdução no indivíduo do próprio peptídeo, ou por introdução no indivíduo de um ácido nucléico que codifica o peptídeo, de uma forma que permita a expressão do peptídeo.

5 Conseqüentemente, em uma modalidade da presente invenção, uma infecção em um indivíduo pode ser tratada ou evitada por administração ao indivíduo de uma quantidade de um peptídeo da invenção. Em uma modalidade adicional da presente invenção, a infecção no indivíduo pode ser tratada
10 ou evitada por administração ao indivíduo de uma sequência de ácidos nucléicos que codifica um peptídeo da invenção, de uma forma que permita a expressão do peptídeo no indivíduo.

Os peptídeos da presente invenção podem ser
15 administrados ou introduzidos em um indivíduo por técnicas conhecidas usadas para a introdução de proteínas e outros fármacos, incluindo, por exemplo, injeção e transfusão. Quando uma infecção estiver localizada em uma porção específica do corpo do indivíduo, pode ser desejável
20 introduzir o peptídeo terapêutico diretamente naquela área por injeção ou por algum outro meio (por exemplo, por introdução do peptídeo no sangue ou em outro fluido corporal). A quantidade de peptídeo a ser utilizada é uma quantidade eficaz para tratar e/ou evitar a infecção no
25 indivíduo, como definido acima, e pode ser facilmente determinada por aqueles habilitados na técnica.

No método da presente invenção, o peptídeo também pode ser administrado ou introduzido no indivíduo por introdução em um número suficiente de células do indivíduo de um ácido
30 nucléico que codifica o peptídeo, de uma forma que permita

a expressão do peptídeo. A quantidade de ácido nucléico que codifica o peptídeo terapêutico é uma quantidade que produzirá o peptídeo em uma quantidade eficaz para tratar e/ou evitar infecção, como definido acima, no indivíduo.

5 Essa quantidade pode ser facilmente determinada por aqueles habilitados na técnica.

O ácido nucléico que codifica o peptídeo da presente invenção pode ser introduzido no indivíduo com o uso de procedimentos convencionais conhecidos na técnica,
10 incluindo, sem limitação, eletroporação, transfecção com DEAF Dextrana, transfecção com fosfato de cálcio, lipofecção, fusão de lipossomo monocatiônico, fusão de lipossomo policatiônico, fusão de protoplasto, criação de um campo elétrico *in vivo*, bombardeamento de microprojétil
15 revestido com DNA, injeção com vírus com replicação recombinante defeituosa, recombinação homóloga, terapia gênica *in vivo*, terapia gênica *ex vivo*, vetores virais, transferência de DNA *naked*, ou qualquer combinação destas. Vetores virais recombinantes adequados à terapia gênica
20 incluem, sem limitação, vetores derivados dos genomas de vírus como retrovírus, HSV, adenovírus, vírus adeno-associado, vírus Semiliki Forest, citomegalovírus e vírus da vacínia.

Inclui-se também dentro dos limites da presente
25 invenção que um ácido nucléico que codifica um peptídeo da invenção pode ser introduzido em células adequadas *in vitro*, com o uso de procedimentos convencionais, para se obter a expressão do peptídeo terapêutico nas células. As células que expressam o peptídeo podem então ser
30 introduzidas em um indivíduo para tratar e/ou evitar

infecção *in vivo*. Nessa abordagem de terapia gênica *ex vivo*, as células são preferivelmente removidas do indivíduo, submetidas às técnicas de DNA para incorporar o ácido nucléico que codifica o peptídeo terapêutico, e
5 depois re-introduzidas no indivíduo.

Também está incluído dentro dos limites da presente invenção que uma formulação que contém um peptídeo da invenção, ou um ácido nucléico que o codifica, pode ainda ser associada a um veículo, diluente ou excipiente
10 farmacêuticamente aceitável compreendendo, dessa forma, uma composição farmacêutica. As composições farmacêuticas da invenção, e os veículos, diluentes e excipientes exemplares, são descritos acima.

As formulações da presente invenção podem ser
15 preparadas por métodos bem conhecidos nas técnicas farmacêuticas. Por exemplo, o peptídeo da invenção, ou um ácido nucléico que o codifica, pode ser associado a um veículo, diluente ou excipiente, como uma suspensão ou solução. Opcionalmente, um ou mais ingredientes acessórios
20 (por exemplo, tampões, agentes flavorizantes, agentes tensoativos, e semelhantes) também podem ser adicionados. A escolha do veículo dependerá da via de administração. A composição farmacêutica seria útil para administração do peptídeo da presente invenção, ou de uma molécula de ácido
25 nucléico que o codifica, a um indivíduo, a fim de tratar e/ou evitar infecção. O peptídeo ou ácido nucléico é fornecido em uma quantidade que é eficaz para tratar e/ou evitar infecção em um indivíduo ao qual a composição farmacêutica é administrada. Essa quantidade pode ser
30 facilmente determinada por aqueles habilitados na técnica,

como descrito acima.

Ensaaios diagnósticos e de rastreamento

A presente invenção fornece um método para o diagnóstico de um indivíduo suspeito de ter uma condição imune inata, ou uma condição relacionada à DPPIV, para prever se um indivíduo responderia ao tratamento com um peptídeo da invenção, por exemplo, aqueles listados na TABELA 1, ou um análogo, derivado ou variante deste, e para rastrear os agentes que modulariam (por exemplo, aumentariam, inibiriam ou simulariam) o efeito imunológico dos peptídeos da invenção. Em outra modalidade, a invenção fornece métodos para rastreamento de análogos, derivados e variantes imunologicamente ativos dos peptídeos da invenção ou aqueles listados na TABELA 1 ou das modificações imunologicamente ativas destes.

Em uma modalidade, é fornecido um método para prever se um paciente com um distúrbio imunológico, por exemplo, uma condição inata relacionada ao sistema imunológico, responderia ao tratamento com um peptídeo da invenção, compreendendo a obtenção de uma amostra biológica do indivíduo, a administração de um peptídeo da invenção à referida amostra, e o monitoramento dos níveis de um marcador predeterminado que seja indicativo da condição, por exemplo, DPPIV para uma condição relacionada à DPPIV, um biomarcador inflamatório para uma infecção, de viabilidade celular ou carga bacteriana, em comparação com um controle positivo e/ou negativo. O controle positivo pode ser uma amostra de um indivíduo com uma condição imunológica conhecida. Um controle negativo pode ser uma amostra do mesmo indivíduo que não recebeu a administração

do peptídeo. Caso o peptídeo module a atividade, o nível de marcador ou a viabilidade celular em relação ao controle, o indivíduo pode ter esse distúrbio imunológico e pode se beneficiar do tratamento com o peptídeo.

5 Mais particularmente, em um aspecto da invenção, caso o indivíduo tenha sob suspeita de ter uma condição relacionada à DPPIV, então o monitoramento da atividade de DPPIV como marcador para a condição seria adequado. Em um aspecto, a redução da atividade de DPPIV em comparação com
10 o controle seria indicativa de que o indivíduo responderia ao tratamento com o peptídeo. Alternativamente, caso o indivíduo tenha ou fosse suspeito de ter uma infecção, então a obtenção de uma amostra do paciente, o seu monitoramento quanto à carga de patógeno ou à viabilidade
15 celular em comparação com uma amostra do paciente após administração do peptídeo, em que a carga de patógeno é menor ou a viabilidade celular é maior no paciente após a administração do peptídeo, é indicativo de que o indivíduo se beneficiaria do tratamento com peptídeo ou que ele tem
20 um distúrbio imunológico.

Em outra modalidade, caso se queira verificar se um peptídeo ou uma modificação de um peptídeo da TABELA 1 ou outro agente teria a mesma atividade imunológica que o peptídeo da invenção, pode-se monitorar o efeito do
25 peptídeo sobre a atividade de DPPIV em comparação com o peptídeo de referência com efeitos moduladores conhecidos, em uma amostra (de um camundongo infectado com um agente ou uma condição relacionada à DPPIV conhecida), ou monitorar a prevenção, a administração do peptídeo ou do agente a uma
30 amostra, a indução da referida infecção ou condição

relacionada à DPPIV na referida amostra e, depois, monitorando-se se o peptídeo modulou ou inibiu o desenvolvimento da referida infecção ou condição relacionada à DPPIV, ou resposta imunológica. A referida amostra pode ser um modelo animal, em que a indução da condição ou da infecção é feita em um modelo animal de acordo com aceito, com diretrizes éticas, e depois o animal, ou a amostra biológica apropriada do animal, é rastreada quanto ao efeito do peptídeo.

10 A presente invenção ainda fornece um método para prever se um indivíduo responderia ao tratamento para uma infecção microbiana, em que o tratamento compreende a administração ao indivíduo de um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou de um análogo, 15 derivado ou variante desta. O método inclui o teste de uma amostra diagnóstica do indivíduo quanto a um ou mais biomarcadores (por exemplo, um biomarcador inflamatório), em que a presença de pelo menos um biomarcador (por exemplo, um biomarcador inflamatório) é indicativa de que o 20 indivíduo responderia ao tratamento.

Como aqui usado, o termo "biomarcador" ou "marcador" representa qualquer biomarcador adequado conhecido por estar, ou reconhecido como estando, relacionado à condição (por exemplo, condição imune, infecção, condição 25 inflamatória, condição relacionada à DPPIV, condição imune inata), e inclui qualquer molécula derivada de um gene (por exemplo, um transcrito do gene), uma seqüência-sonda senso (codificadora) ou anti-senso (não codificadora) derivada de um gene, ou um produto da tradução de comprimento parcial 30 ou de comprimento total de um gene, ou um anticorpo contra

esse, que pode ser usada para monitorar uma condição, um distúrbio ou uma doença associada à resposta imunológica, à resposta imunológica inata, à inflamação e/ou a uma condição relacionada à DPPIV.

5 De acordo com o método da presente invenção, a amostra diagnóstica de um indivíduo pode ser testada *in vitro* ou *in vivo*. Quando o ensaio for realizado *in vitro*, uma amostra diagnóstica do indivíduo pode ser removida com o uso de procedimentos padronizados. A amostra diagnóstica pode ser
10 um tecido, incluindo qualquer tecido muscular, tecido cutâneo ou tecido mole, que pode ser removido por uma biópsia-padrão. Além disso, A amostra diagnóstica pode ser um fluido corpóreo, incluindo sangue, saliva, soro ou urina. O indivíduo ou paciente pode sabidamente ter uma
15 infecção microbiana ou outro distúrbio imunológico como, por exemplo, uma condição relacionada à DPPIV, pode ser suspeito de ter uma infecção microbiana ou outra condição imunológica como, por exemplo, uma condição imune inata ou uma condição relacionada à DPPIV, ou que supostamente não
20 tem uma infecção microbiana ou outra condição imunológica como, por exemplo, uma condição imune inata, ou uma condição relacionada à DPPIV.

De acordo com o método da presente invenção, uma amostra diagnóstica do indivíduo pode ser testada quanto à
25 expressão de um ou mais marcadores desejados. Como aqui usado, o termo "expressão" significa a transcrição de um gene de marcador inflamatório em pelo menos um transcrito de mRNA, ou a tradução de pelo menos um mRNA em uma proteína marcadora. Conseqüentemente, uma amostra
30 diagnóstica pode ser testada quanto à expressão do marcador

pesquisando-se uma proteína marcadora, um cDNA marcador ou um mRNA marcador. A forma adequada do marcador ficará evidente com base nas técnicas específicas aqui discutidas.

A proteína a ser testada pode ser isolada e purificada da amostra diagnóstica do indivíduo ou paciente com o uso de métodos padronizados conhecidos na técnica, incluindo, sem limitação, a extração de um tecido (por exemplo, com um detergente que solubiliza a proteína), quando necessário, seguido por purificação por afinidade em uma coluna, cromatografia (por exemplo, FPLC e HPLC), imunoprecipitação (com um anticorpo para um marcador inflamatório de interesse), e precipitação (por exemplo, com isopropanol e um reagente como, por exemplo, Trizol). O isolamento e a purificação da proteína podem ser seguidos por eletroforese (por exemplo, em um gel de SDS-poliacrilamida). Contempla-se que a amostra diagnóstica pode ser testada quanto à expressão de qualquer uma ou de todas as formas de proteína marcadora (incluindo formas precursoras, formas processadas de forma endoproteolítica, e outras formas resultantes de modificação pós-tradução). O ácido nucléico pode ser isolado de uma amostra diagnóstica com o uso de técnicas padronizadas conhecidas por aqueles habilitados na técnica.

De acordo com o método da presente invenção, uma amostra diagnóstica de um indivíduo pode ser testada quanto à expressão do marcador, e a expressão do marcador pode ser detectada em uma amostra diagnóstica com o uso de ensaios e métodos de detecção facilmente determinados na técnica estabelecida (por exemplo, técnicas imunológicas, análise de análise de hibridização, técnicas de imagens por fluorescência e/ou detecção de radiação), além de muitos

ensaios e métodos de detecção aqui revelados (por exemplo, imunoprecipitação, análise *Western blot* etc.). Por exemplo, uma amostra diagnóstica de um indivíduo pode ser testada quanto à expressão do marcador com o uso de um agente reativo com um marcador inflamatório. Como aqui usado, "reativo" significa que o agente possui afinidade, se liga ou é dirigido contra o marcador. Ainda como aqui usado, um "agente" deve incluir uma proteína, um polipeptídeo, um peptídeo, um ácido nucléico (incluindo DNA ou RNA), um anticorpo, um fragmento Fab, um fragmento $F(ab')_2$, uma molécula, um composto, um antibiótico, um fármaco, e quaisquer combinações destes. De preferência, o agente da presente invenção é rotulado com um marcador ou rótulo detectável, de acordo com as técnicas aqui descritas. Em uma modalidade da presente invenção, o agente reativo com um marcador é um anticorpo.

Quando o agente da presente invenção for um anticorpo reativo com o marcador desejado, uma amostra diagnóstica retirada do indivíduo poderá ser purificada por passagem através de uma coluna de afinidade que contém anticorpo contra o marcador, anexado como um ligante a um suporte sólido (por exemplo, um polímero orgânico insolúvel na forma de um glóbulo, gel ou placa). O anticorpo anexado ao suporte sólido pode ser usado na forma de uma coluna. Exemplos de suportes sólidos adequados incluem, sem limitação, agarose, celulose, dextrana, poliacrilamida, poliestireno, sefarose, e outros polímeros orgânicos insolúveis. O anticorpo para o marcador pode ainda ser anexado ao suporte sólido através de uma molécula espaçadora, se desejado. Condições de ligação adequadas

(por exemplo, temperatura, pH e concentração de sal) para assegurar a ligação do agente e do anticorpo, podem ser facilmente determinadas por aqueles habilitados na técnica. Em uma modalidade preferida, o anticorpo para o marcador é
5 anexado a uma coluna de sefarose como, por exemplo, Sefarose 4B.

Adicionalmente, quando o agente for um anticorpo, uma amostra diagnóstica do indivíduo poderá ser testada quanto à expressão do marcador imunológico com o uso de estudos de
10 ligação que utilizam um ou mais anticorpos imunorreativos com o marcador, juntamente com técnicas padronizadas de detecção imunológica. Por exemplo, a proteína marcadora eluída pela coluna de afinidade pode ser submetida a um ensaio ELISA, análise *Western blot*, citometria de fluxo, ou
15 qualquer outro método de imunocoloração que empregue uma interação antígeno-anticorpo. De preferência, a amostra diagnóstica é testada quanto à expressão do marcador com o uso de *Western blotting*.

Alternativamente, uma amostra diagnóstica de um
20 indivíduo pode ser testada quanto à expressão do marcador com o uso de análise de hibridização de ácido nucléico extraído da amostra diagnóstica retirada do indivíduo. De acordo com esse método da presente invenção, a análise de hibridização pode ser realizada com o uso de análise
25 *Northern blot* do mRNA. Esse método também pode ser realizado através de análise *Southern blot* de DNA com o uso de uma ou mais sondas de ácido nucléico que hibridizam para o ácido nucléico que codifica o marcador. As sondas de ácido nucléico podem ser preparadas por várias metodologias
30 conhecidas por aqueles habilitados na técnica, incluindo,

sem limitação, as seguintes: digestão por restrição enzimática do ácido nucléico do marcador; e síntese automatizada de oligonucleotídeos que possuem as seqüências que correspondem às porções selecionadas da seqüência de
5 nucleotídeos do ácido nucléico do marcador, com a utilização de sintetizadores de oligonucleotídeos disponíveis comercialmente como, por exemplo, o sintetizador Applied Biosystems Modelo 392 DNAIRNA.

As sondas de ácido nucléico usadas na presente
10 invenção podem ser DNA ou RNA, e podem variar em termos de comprimento de cerca de 8 nucleotídeos até todo o comprimento do ácido nucléico do marcador inflamatório. Além disso, as sondas de ácido nucléico da presente invenção podem ser rotuladas com um ou mais marcadores ou
15 rótulos detectáveis. A marcação das sondas de ácido nucléico pode ser obtida com o uso diversos métodos conhecidos na técnica, incluindo qualquer um daqueles aqui descritos. Combinações de duas ou mais sondas de ácido nucléico (ou iniciadores), que correspondem a regiões
20 diferentes ou sobrepostas do ácido nucléico do marcador, também podem ser usadas para testar uma amostra diagnóstica quanto à expressão do marcador, usando, por exemplo, PCR ou RT-PCR.

A detecção da expressão do marcador no método da
25 presente invenção pode ser acompanhada por um ensaio para medir ou quantificar a extensão da expressão do marcador em uma amostra diagnóstica de um indivíduo. Esses ensaios são bem conhecidos por aqueles habilitados na técnica, e podem incluir imunoistoquímica/imunocitoquímica, citometria de
30 fluxo, espectroscopia de massa, análise *Western blot* ou um

ELISA para medir as quantidades de proteína marcadora. Por exemplo, para se utilizar um ensaio de imunistoquímica, cortes histológicos (embebidos em parafina) de tecidos podem ser colocados em lâminas, e depois incubados com um anticorpo contra um marcador. As laminas podem então ser incubadas com um segundo anticorpo (contra o anticorpo primário), que é marcado por um corante ou outro sistema calorimétrico (por exemplo, um fluorcromo, um agente radioativo ou um agente que possui alta capacidade de varredura de elétrons), para permitir a visualização do marcador presente nos cortes.

A presente invenção será descrita nos Exemplos a seguir, os quais são apresentados para ajudar na compreensão da invenção, e não devem ser considerados como limitantes de alguma forma do escopo da invenção, como definido nas reivindicações que serão apresentadas posteriormente.

EXEMPLOS

EXEMPLO 1 - SÍNTESE PEPTÍDICA

Os peptídeos na TABELA 1 foram sintetizados com o uso de uma técnica de síntese peptídica em fase sólida.

Todos os aminoácidos protegidos com Fmoc necessários foram pesados com excesso molar de três vezes em relação ao peptídeo de 1 mol desejado. Os aminoácidos foram então dissolvidos em Dimetilformamida (DMF) (7,5 ml), para formar uma solução de 3 mMol. Uma quantidade apropriada de resina MBHA de amida de Rink foi pesada, levando em conta a substituição da resina. A resina foi então transferida para um vaso de reação de um sintetizador automatizado, e foi pré-embebida com Diclorometano (DCM) por 15 minutos.

A resina foi desprotegida por adição de piperidina 25% em DMF (30 ml) à resina, e misturando-se por 20 minutos. Após a desproteção da resina, foi feito o primeiro acoplamento misturando-se a solução de 3 mMol de aminoácido com 4 mMol de hexafluorofosfato de 2-(1H-benzitriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio (HBTU) e 8 mMol de N,N-diisopropiletilamina (DIEPA). Deixou-se a solução ser pré-ativada por 5 minutos, antes de ser adicionada à resina. Deixou-se o aminoácido acoplar por 45 minutos.

10 Após o acoplamento, a resina foi cuidadosamente enxaguada com DMF e Dimetilacetamida (DMA). O aminoácido protegido por Fmoc anexado foi desprotegido da mesma forma descrita acima, e o aminoácido seguinte foi anexado com o uso do mesmo esquema de acoplamento AA:HBTU:DIEPA.

15 Após o término da síntese, o peptídeo foi clivado da resina com o uso de um coquetel de clivagem contendo ácido trifluoracético 97,5% (TFA) e água 2,5%. A resina ficou no coquetel de clivagem por 1 ½ hora. A solução foi então filtrada por gravidade usando um funil de Buchner, e o
20 filtrado foi coletado em um 50 ml tubo de centrifugação. O peptídeo foi isolado por precipitação com éter dietílico resfriado. Após centrifugação e decantação do éter dietílico, o peptídeo bruto foi lavado com éter dietílico mais uma vez, antes de ser seco em um dessecador a vácuo
25 por 2 horas. O peptídeo foi então dissolvido em água deionizada (10 ml), congelado a -80°C, e liofilizado. O peptídeo seco estava então pronto para purificação por HPLC.

 Por causa da natureza hidrofílica desses peptídeos, o
30 isolamento do peptídeo do éter dietílico não funcionou.

Portanto, foi necessária uma extração com clorofórmio. O TFA foi evaporado, e o resíduo de peptídeo resultante foi dissolvido em ácido acético 10% (15 ml). As impurezas e os limpadores foram removidos da solução de ácido acético de peptídeo por lavagem da solução duas vezes com clorofórmio (30 ml). A solução aquosa de peptídeo foi então congelada a -80°C e liofilizada, resultando em um peptídeo em pó pronto para purificação por HPLC.

Cada um dos peptídeos dos IDS. DE SEQ. N^{os}: 33 e 34 continha um aminoácido N-metil. Esse acoplamento foi realizado por combinação de soluções conjuntas do aminoácido N-metil, PyBroP e N-hidroxibenzotriazol*H₂O (HOBt) e DIEPA no vaso de reação que contém a resina. Após permitir o acoplamento por 45 minutos, o aminoácido N-metil foi então acoplado duas vezes para assegurar o acoplamento completo. Observou-se que o acoplamento após o aminoácido N-metil não era totalmente completo. Portanto, esse acoplamento foi realizado usando hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)urônio (HATU) ao invés de HBTU. Isso ainda resultou em um peptídeo bruto que tipicamente continha duas impurezas totalizando 30-40% da pureza total. O peptídeo foi purificado sob condições de HPLC modificadas para isolar o pico de peptídeo puro, afastando-o das impurezas que eluem proximamente.

EXEMPLO 2 - ATIVIDADE NÃO ANTIMICROBIANA

Foram semeadas bactérias (*S. aureus* 25923) em poços contendo peptídeo (200 µM), veículo (Tris) ou antibiótico (eritromicina; 120 µg/ml). Permitiu-se o crescimento das bactérias por 2 horas. A seguir, foi determinada a

viabilidade bacteriana com a utilização de um ensaio colorimétrico da viabilidade WST-1 (número de catálogo 1 644 807; Roche Diagnostics). DMEM e DMEM+WST-1 foram incluídos como controles de fundo. Como mostrado na FIG. 1 A e B, o peptídeo dos IDS. DE SEQ. N^{os}: 5 e 47 mostra claramente uma ausência de atividade, comparado com um controle de antibiótico.

EXEMPLO 3 - PROTEÇÃO IN VIVO

Camundongos foram infectados com *S. aureus* 25923 por meio de uma injeção intraperitoneal (IP). Quatro horas mais tarde, o peptídeo dos IDS. DE SEQ. N^{os}: 1, 4, 5, 6, 45 e 47 foram administrados a 12 mg/kg e 24 mg/kg para o ID. DE SEQ. N^o: 1 (FIG. 2A e 2B), 9,6 mg/kg para o ID. DE SEQ. N^o: 5 (FIG. 2C), 13 mg/kg para o ID. DE SEQ. N^o: 47 (FIG. 2D), 12 mg/kg para o ID. DE SEQ. N^o: 4 (FIG. 2E), 9 mg/kg para o ID. DE SEQ. N^o: 6 (FIG. 2F) e 13 mg/kg para o ID. DE SEQ. N^o: 45 (FIG. 2G), por meio de injeção IP. Vinte e quatro horas pós-infecção, os animais sobreviventes foram sacrificados, e líquido de lavagem intraperitoneal foi plaqueado para determinar contagens bacterianas residuais (# unidades de formação de colônias por ml (CFU/ml)) na presença e ausência de tratamento com peptídeo.

Os animais mortos receberam a contagem bacteriana mais elevada de todos os animais do estudo. O peptídeo dos IDS. DE SEQ. N^{os}: 1, 4, 5, 6, 45 e 47 demonstrou claramente proteção, comparado com o controle, como mostrado na FIG. 2 A - G.

EXEMPLO 4 - PROTEÇÃO PROFILÁTICA IN VIVO

Vinte e quatro horas antes da infecção, o peptídeo foi administrado a 12 mg/kg (ID. DE SEQ. N^o: 1, FIG. 3A) e 11,5

mg/kg (ID. DE SEQ. N°: 5, FIG. 3B), por meio de injeção IP. Os camundongos foram então infectados com *S. aureus* 25923 por meio de injeção IP. Vinte e quatro horas pós-infecção, os animais sobreviventes foram sacrificados, e o líquido de lavagem intraperitoneal foi plaqueado para determinar contagens bacterianas residuais (# unidades de formação de colônias por ml (CFU/ml)) na presença e ausência de tratamento com peptídeo.

Os animais mortos receberam a contagem bacteriana mais elevada de todos os animais do estudo. Os peptídeos do ID. DE SEQ. N°: 1 e 5 demonstraram claramente proteção (0 morte de camundongo (tratamento com peptídeo) vs. 2 camundongos mortos (controle)). Veja as Figuras 3 A e B.

Os resultados obtidos pelos inventores em relação aos experimentos dos Exemplos 1-4 serão discutidos abaixo:

Os inventores demonstraram que um peptídeo que possui a sequência de aminoácidos dentre aquelas mostradas na TABELA 1 ou como aqui descritas como parte da invenção pode aumentar a imunidade inata. Especificamente, os peptídeos dos IDS. DE SEQ. N°s: 1, 4, 5, 6, 45 e 47 tiveram a habilidade para evitar e proteger contra infecção, como demonstrado em modelos *in vivo* (FIG. 2 e Exemplo 3; FIG. 3 e Exemplo 4). No entanto, o peptídeo dos IDS. DE SEQ. N°s: 5 e 47 não possuía atividade antimicrobiana, como mostrado no Exemplo 1 e na FIG. 1. Conseqüentemente, a modulação da imunidade inata através do peptídeo dos IDS. DE SEQ. N°s: 5 e/ou 47 indica que esses peptídeos podem ser usados como uma substância terapêutica para o tratamento de uma doença infecciosa.

30 EXEMPLO 5 - ENSAIO DA ATIVIDADE PLASMÁTICA DE PLASMA COM

SANGUE DE CAMUNDONGO

O sangue de camundongo foi obtido por punção cardíaca de camundongos ICR, e coletado em tubos heparinizados de coleta de sangue. O sangue de vários camundongos foi
5 reunido em pool, e dividido em alíquotas de 300 µl. O peptídeo foi dissolvido em soro fisiológico tamponado com acetato, pH 5,5, até uma concentração de 9 mM. Dessa solução de estoque, foram adicionados 30 µl aos 300 µl de sangue, e misturados por re-suspensão (concentração no
10 sangue de 0,82 mM). Para o controle, 30 µl de soro fisiológico tamponado com acetato puro foram adicionados aos 300 µl de sangue. Cada grupo de peptídeo foi preparado em triplicata, enquanto o controle foi preparado em seis réplicas. As amostras foram incubadas a 37°C em microtubos
15 fechados por duas horas. Após incubação, o plasma foi isolado das amostras por centrifugação a 4.000 rcf. O plasma foi transferido para uma placa de ensaio de 96 poços para o ensaio de DPPIV. O ensaio foi iniciado por adição de 5 µl do substrato de DPPIV gly-prop-nitroanilida (16 mM em
20 água deionizada) a 95 µl de plasma (concentração no plasma de 0,8 mM), e o aumento da absorbância UV (405 nm) foi monitorado ao longo de um período de tempo de 20 minutos. A taxa da produção de p-nitroanilina por clivagem enzimática de gly-pro-p-nitroanilida foi considerada como a atividade
25 de DPPIV (Durinx C e cols., (2001) "Reference values for plasma dipeptidyl-peptidase IV activity and their association with other laboratory parameters". *Clin. Chem. Lab. Med.* 39(2): 155-9).

Os resultados podem ser observados na TABELA 1. Foi
30 observado o efeito dos peptídeos sobre a atividade de

DPPIV. Os resultados são apresentados como % de atividade média normalizada, em relação ao controle de soro fisiológico (ajustado para 100%). Qualquer nível abaixo de 100% de atividade representa uma redução da atividade de DPPIV.

Em um aspecto da invenção, uma redução da atividade de DPPIV de cerca de ou, em uma modalidade, pelo menos, 25% (ou seja, de cerca de 75%), era considerada ativa. Aqueles habilitados na técnica observarão que o nível de atividade desejado pode variar, dependendo do uso dos peptídeos.

Discussão

A serina protease dipeptidil peptidase transmembrana N do tipo II (DPPIV), também conhecida como CD26 ou proteína de ligação de adenosina desaminase, é um regulador importante de vários processos fisiológicos, incluindo funções imunológicas. CD26/DPPIV é uma glicoproteína da superfície celular de 110 kD que é expressa principalmente em timócitos maduros, células T ativadas, células B, células NK, macrófagos e células epiteliais. Ela possui pelo menos duas funções, uma função de transdução de sinal e uma função proteolítica (Morimoto C, Schlossman S.F. "Structure and function of CD26 in the T-cell immune response". *Immunol. Review.* 1998, 161: 55-70.). Um de seus papéis celulares envolve a modulação da atividade de quimiocina por clivagem dos dipeptídeos do terminal N de quimiocina. A modulação do NH₂ terminais de quimiocinas é de grande importância, não apenas para a ligação aos seus receptores e nas reações seguintes, mas também para alteração da especificidade do receptor da quimiocina processada. Além disso, foi demonstrado que rCD26 solúvel

aumenta a migração transendotelial de células T, ao mesmo tempo em que reduz a resposta migratória de monócitos [Oravecz, T. e cols., (1997) "Regulation of the receptor specificity and formation of the chemokine RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted) by dipeptidyl peptidase IV (CD26)-mediated cleavage". *J. Exp. Med.* 186: 1.865-1.872; Iwata, S., e cols., (1999) "CD26/ dipeptidyl peptidase IV differentially regulates the chemotaxis of T cells and monocytes toward RANTES: possible mechanism for the switch from innate to acquired immune response". *Int. Immunol.* 11: 417-426). Esses resultados indicam que CD26/DPPIV regula diferencialmente a resposta quimiotática de células T e monócitos, e está envolvida na mudança da resposta imunológica inata para adquirida. Como tal, uma redução da atividade de DPPIV teria, então, um efeito oposto, promovendo uma resposta imunológica inata e respostas migratórias de macrófagos. Foi também relatado que a inibição farmacológica da atividade enzimática de DPPIV poderia reduzir a progressão de artrite em um modelo experimental em rato de RA (Tanaka S e cols., "Anti-arthritic effects of the novel dipeptidyl peptidase IV inhibitors TMC-2A and TSL-225". *Immunopharmacology* 1998, 40: 21-26; Tanaka S, e cols., "Suppression of arthritis by the inhibitors of dipeptidyl peptidase IV." *Int. J. Immunopharmacol.* 1997, 19: 15-24), sugerindo que diminuições da atividade de DPPIV poderiam aliviar a inflamação sob algumas circunstâncias. Em conjunto, o papel antiinflamatório e sua modulação da atividade de quimiocina tornam DPPIV uma boa molécula para o rastreamento de

compostos inéditos para essas atividades.

CD26/DPPIV está envolvida na patologia de diversas doenças como, por exemplo, AIDS e progressão da doença por HIV (Blazquez e cols. 1992; Vanham e cols. 1993; Schols e cols. 1998 Oravec e cols. 1995), doença de Graves (Eguchi e cols. 1989; Nishikawa e cols. 1995) e câncer (Stecca e cols. 1997) e diabetes (Hinke e cols. 2000; Marguet e cols. 2000).

Além disso, CD26 como indicador de ativação de células T demonstrou flutuar em paralelo com várias doenças autoimunes, tais como artrite reumatóide (Nakao e cols., 1989) e tireoidite autoimune (Eguchi e cols., 1989). CD26 foi descrita como um marcador com boa correlação com o nível de atividade dessas doenças. Além disso, ela foi estudada como indicador de progressão da doença na esclerose múltipla crônica progressiva (Constantinescu e cols., 1995).

Os peptídeos da presente invenção demonstraram que podem reduzir a atividade de DPPIV. Como tal, eles podem ser usados no tratamento de certas condições imunológicas, tais como condições relacionadas ou associadas à DPPIV, e podem, em um aspecto, modular a imunidade inata e a inflamação como, por exemplo, a inflamação que leva à sépsis.

Embora a invenção tenha sido descrita anteriormente em algum detalhe para fins de clareza e uma melhor compreensão, será observado por aqueles habilitados na técnica, a partir da leitura da especificação, que várias mudanças, na forma e nos detalhes, podem ser feitas, sem se afastar do verdadeiro escopo da invenção nas reivindicações

em anexo.

TABELA 1
 todos os terminais Caminados, a menos que indicado de forma diferente ***

[illegible]

** % Atividade de DPPIV (soro), em que o controle é atividade de 100% (soro fisiológico ou veículo isoladamente, sem o peptídeo). São desejáveis cerca de 75% ou menos de atividade em relação ao controle de soro fisiológico.

*** OH indica a forma de ácido livre do peptídeo. Ac indica acetilado. O indica ornitina, Cit indica citrulina, x indica estrutura NMe básica (versus estrutura amida básica).

TABELA 1 (CONTINUAÇÃO)

Observação 1 da Tabela 1:

X₁ é selecionado do grupo que consiste nos compostos baseados em K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr ou glicina com grupos funcionais básicos substituídos no terminal N (por exemplo, Nlys), hSer, Val(betaOH).

X₂ é selecionado do grupo que consiste em V, I, K, P e H incluindo um peptídeo isolado de até 10 aminoácidos que compreende uma sequência de aminoácidos de ID. DE SEQ. N°: 55.

Observação 2 da Tabela 1:

em que X₁ é selecionado do grupo que consiste nos compostos baseados em K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr ou glicina com grupos funcionais básicos substituídos no terminal N (por exemplo, Nlys), hSer, Val(betaOH), e em que

X₂ é selecionado do grupo que consistem em A, I, L, V, K, P, G, H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle e em que X₂ pode ser N-metilado, e em que X₃ é selecionado do grupo que consiste em I, V, P, em que, em uma modalidade, X₃ não é metilado no N. Em uma modalidade, o peptídeo

isolado pode ser uma sequência de aminoácidos de até 10

aminoácidos, mas não é dos IDS. DE SEQ. N^{os}: 2 ou 17.

Observação 3 da Tabela 1:

em que X_1 , X_2 e X_3 são definidos como no ID. DE SEQ. N^o: 56, e em que "a" é selecionado do grupo que consiste em S, P, I, R, C, T, L, V, A, G, K, H, R, O, C, M, e F ou um peptídeo isolado de até 10 aminoácidos compreendendo as referidas seqüências.

Observação 4 da Tabela 1:

Em que $X_1X_2X_3P$ são como definidos no ID. DE SEQ. N^o: 56 e "b" é selecionado do grupo que consiste em A, A*, G, S, L, F, K, C, I, V, T, Y, R, H, O e M, mas, em uma modalidade, não P. Em uma modalidade, o peptídeo isolado é um peptídeo de até 10 aminoácidos que compreende o ID. DE SEQ. N^o: 58, mas não o ID. DE SEQ. N^o: 17.

Observação 5 da Tabela 1:

em que X_1 , X_2 e X_3 são como definidos no ID. DE SEQ. N^o: 56, e " a_1 " é selecionado do grupo que consiste em K, I, R, H, O, L, V, A e G, e " a_2 " é selecionado do grupo que consiste em S, P, R, T, H, K, O, L, V, A, G, S, e I. Em uma modalidade, " a_1 " não é acetilado ou, quando a_1 for K, K não será acetilado, e nem o ID. DE SEQ. N^o: 2. Em uma modalidade, o peptídeo isolado compreende até 10 aminoácidos que compreende o ID. DE SEQ. N^o: 59.

Observação 6 da Tabela 1:

em que X_1 , X_2 e X_3 são como definidos no ID. DE SEQ. N^o: 56, e em que "a" é selecionado do grupo que consiste em S, R, K, H, O, T, I, L, V, A e G, e em que "b" é selecionado do grupo que consiste em A, V, I, L, G, K, H, R, O, S, T e F, ou um peptídeo de até 10 aminoácidos que compreende o ID. DE SEQ. N^o: 60.

REFERÊNCIAS CITADAS

Blazquez M.V., Madueno J.A., Gonzalez R., Jurado R.,
 Bachovchin W.W., Pena J., Munoz E. "Selective decrease of
 CD26 expression in T cells from HIV-1-infected
 5 individuals". *J. Immunol.* 1992 1º de novembro de 149(9):
 3.073-7.

Vanham G., Kestens L., De Meester I., Vingerhoets J.,
 Penne G., Vanhoof G., Scharpe S., Heyligen H., Bosmans E.,
 Ceuppens J.L., e cols. "Decreased expression of the memory
 10 marker CD26 on both CD4+ and CD8+ T lymphocytes of HIV-
 infected subjects". *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 1993
 Jul; 6(7): 749-57.

Schols D., Proost P., Struyf S., Wuyts A., De Meester
 I., Scharpe S., Van Damme J., De Clercq E. "CD26-processed
 15 RANTES(3-68), but not intact RANTES, has potent anti-HIV-1
 activity". *Antiviral Res.* Outubro de 1998; 39(3):175-87.
 Errata em: *Antiviral Res.*, janeiro de 1999; 40(3):189-90.

Oravec T., Roderiquez G., Koffi J., Wang J., Ditto
 M., Bou-Habib D.C., Lusso P., Norcross M.A. "CD26
 20 expression correlates with entry, replication and
 cytopathicity of monocytotropic HIV-1 strains in a T-cell
 line". *Nat. Med.*, setembro de 1995; 1(9): 919-26.
 Comentários em: *Nat Med.*, setembro de 1995; 1(9): 881-2.

Nishikawa Y., Nakamura M., Fukumoto K., Matsumoto M.,
 25 Matsuda T., Tanaka Y., Yoshihara H. "[Adenosine deaminase
 isoenzymes in patients with Graves's disease]" *Rinsho
 Byori.* Outubro de 1995; 43(10): 1.057-60. [Artigo em
 japonês].

Eguchi K., Ueki Y., Shimomura C., Otsubo T., Nakao H.,
 30 Migita K., Kawakami A., Matsunaga M., Tezuka H., Ishikawa

N., e cols. "Increment in the Tal+ cells in the peripheral blood and thyroid tissue of patients with Graves's disease". *J. Immunol.*, 15 de junho de 1989; 142(12): 4.233-40.

- 5 Stecca B.A., Nardo B., Chieco P., Mazziotti A., Bolondi L., Cavallari A. "Aberrant dipeptidyl peptidase IV (DPP IV/CD26) expression in human hepatocellular carcinoma". *J. Hepatol.*, agosto de 1997; 27(2): 337-45.

- Hinke S.A., Pospisilik J.A., Demuth H.U., Mannhart S.,
10 Kuhn-Wache K., Hoffmann T., Nishimura E., Pederson R.A., McIntosh C.H. "Dipeptidyl peptidase IV (DPIV/CD26) degradation of glucagon. Characterization of glucagon degradation products and DPIV-resistant analogs". *J. Biol. Chem.*, 11 de fevereiro de 2000; 275(6): 3.827-34.

- 15 Marguet D., Baggio L., Kobayashi T., Bernard A.M., Pierres M., Nielsen P.F., Ribel U., Watanabe T., Drucker D.J., Wagtmann N. "Enhanced insulin secretion and improved glucose tolerance in mice lacking CD26". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 6 de junho de 2000; 97(12): 6.874-9.

- 20 Nakao H., Eguchi K., Kawakami A., Migita K.; Otsubo T., Ueki Y., Shimomura C., Tezuka H., Matsunaga M., Maeda K., e cols., "Increment of Tal positive cells in peripheral blood from patients with rheumatoid arthritis". *J. Rheumatol.*, julho de 1989; 16(7): 904-10.

- 25 Constantinescu C.S., Kamoun M., Dotti M., Farber R.E., Galetta S.L., Rostami A. "A longitudinal study of the T cell activation marker CD26 in chronic progressive multiple sclerosis". *J. Neurol. Sci.*, junho de 1995; 130(2): 178-82.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Inimex Pharmaceuticals, Inc.

5 <120> PEPTÍDEOS INÉDITOS PARA TRATAMENTO E PREVENÇÃO DE DISTÚRBIOS
RELACIONADOS AO SISTEMA IMUNOLÓGICO, INCLUINDO O TRATAMENTO E A
PREVENÇÃO DE INFECÇÃO POR MODULAÇÃO DA IMUNIDADE INATA

<130> 190476-382091

10 <140> N/A
<141> 04-10-2006

<150> US 60/722,962

15 <151> 04-10-2005

<150> US 60/722,958

<151> 04-10-2005

20 <150> US 60/722,959
<151> 04-10-2005

<160> 60

25 <170> PatentIn versão 3.3

<210> 1
<211> 6
<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

35 <400> 1

Lys Ser Arg Ile Val Pro
1 5

40 <210> 2
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

45 <220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<220>

50 <221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa é igual ao Acetilado K

<400> 2

55 Xaa Ser Arg Ile Val Pro
1 5

60 <210> 3
<211> 6

```

    <212>  PRT
    <213>  Artificial

    <220>
5    <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400>  3

    Ser Arg Ile Val Pro Ala
10   1           5

    <210>  4
    <211>  5
15   <212>  PRT
    <213>  Artificial

    <220>
20   <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400>  4

    Ser Arg Ile Val Pro
25   1           5

    <210>  5
    <211>  5
30   <212>  PRT
    <213>  Artificial

    <220>
    <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

35   <400>  5

    Arg Ile Val Pro Ala
    1           5

40

    <210>  6
    <211>  5
    <212>  PRT
    <213>  Artificial
45

    <220>
    <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400>  6
50

    Lys Ile Val Pro Ala
    1           5

55   <210>  7
    <211>  5
    <212>  PRT
    <213>  Artificial

60   <220>
    <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

```

```

    <220>
    <221> misc_feature
    <222> (5)..(5)
5    <223> Xaa é igual ao D- Aminoácido do Ala

    <400> 7

Arg Ile Val Pro Xaa
10 1          5

    <210> 8
    <211> 4
15  <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
20
    <400> 8

Arg Val Pro Ala
1
25

    <210> 9
    <211> 4
    <212> PRT
30  <213> Artificial

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
35
    <400> 9

Arg Ile Pro Ala
1
40

    <210> 10
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial
45

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <220>
50  <221> misc_feature
    <222> (5)..(5)
    <223> Xaa é igual ao Ala -OH

    <400> 10
55
Arg Ile Val Pro Xaa
1          5

60  <210> 11
    <211> 5

```

```

    <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
5    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400> 11

Arg Ala Val Pro Ala
10  1          5

    <210> 12
    <211> 6
15  <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
20  <400> 12

Arg Arg Ile Val Pro Ala
    1          5
25

    <210> 13
    <211> 5
    <212> PRT
30  <213> Artificial

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
35  <400> 13

Arg Lys Val Pro Ala
    1          5
40

    <210> 14
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial
45

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400> 14
50

Arg Ile Val Pro Lys
    1          5

55  <210> 15
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial

60  <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

```

<400> 15
 Arg Pro Val Pro Ala
 5 1 5

<210> 16
 <211> 5
 10 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 15

<400> 16
 Arg Ile Pro Pro Ala
 20 1 5

<210> 17
 <211> 5
 <212> PRT
 25 <213> Artificial

<220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 30

<400> 17
 Arg Ile Val Pro Pro
 1 5

35

<210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial
 40

<220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 45

<400> 18
 Arg Ile Val Pro Gly Gly Ala
 1 5

50

<210> 19
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial

55

<220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 19

60 Gly Gly Ile Val Pro Ala
 1 5

5 <210> 20
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

 10 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 20

 15 Gly Ile Val Pro Ala
 1 5

 20 <210> 21
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 25 <400> 21

 Arg Gly Val Pro Ala
 1 5
 30
 <210> 22
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 35
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

 <400> 22
 40
 Arg Ile Val Pro Gly
 1 5

 45 <210> 23
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial

 50 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

 <400> 23

 55 Arg Ile Val Pro Ser
 1 5

 60 <210> 24
 <211> 5
 <212> PRT

<213> Artificial
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 5 <400> 24
 Arg Ile Val Pro Leu
 1 5
 10
 <210> 25
 <211> 5
 <212> PRT
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 20 <400> 25
 Arg His Val Pro Ala
 1 5
 25
 <210> 26
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 30
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 26
 35
 Arg Ile Pro Val Ala
 1 5
 40
 <210> 27
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 45
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 27
 50 Arg Val Ile Pro Ala
 1 5
 55
 <210> 28
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 60
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<400> 28
 Arg Ile Ile Pro Ala
 1 5
 5
 <210> 29
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 15 <400> 29
 Ala Val Pro Ile Arg
 1 5
 20
 <210> 30
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 25
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 30
 30 Ala Pro Val Ile Arg
 1 5
 35 <210> 31
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 31
 45 Arg Ile Val Pro Ala
 1 5
 50 <210> 32
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 55 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 32
 60 Cys Arg Ile Val Pro Ala Cys
 1 5

```

    <210> 33
    <211> 5
    <212> PRT
5    <213> Artificial

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

10   <220>
    <221> misc_feature
    <222> (2)..(2)
    <223> Xaa é igual ao I com uma estrutura principal NMe

15   <400> 33

    Arg Xaa Val Pro Ala
    1          5

20   <210> 34
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial

25   <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <220>
30   <221> misc_feature
    <222> (5)..(5)
    <223> Xaa é igual ao A com uma estrutura principal N-metilada

    <400> 34

35   Arg Ile Val Pro Xaa
    1          5

40   <210> 35
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial

45   <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400> 35

50   Arg Ile Val Pro Phe
    1          5

    <210> 36
55   <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
60   <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

```

<400> 36
 Cit Ile Val Pro Ala
 1 5
 5
 <210> 37
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 15 <400> 37
 Arg Leu Val Pro Ala
 1 5
 20
 <210> 38
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 25
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 38
 30 His Ile Val Pro Ala
 1 5
 35 <210> 39
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 39
 45 Ile Arg Arg Val Pro Ala
 1 5
 50 <210> 40
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 55 <223>
 <400> 40
 60 Ala Arg Val Pro Ala
 1 5

```

    <210> 41
    <211> 5
    <212> PRT
5    <213> Artificial

    <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

10   <400> 41

    Ile Arg Val Pro Ala
    1          5

15   <210> 42
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial

20   <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400> 42

25   Orn Ile Val Pro Ala
    1          5

30   <210> 43
    <211> 5
    <212> PRT
    <213> Artificial

35   <220>
    <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400> 43

40   Ser Ile Val Pro Ala
    1          5

    <210> 44
45   <211> 13
    <212> PRT
    <213> Artificial

    <220>
50   <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

    <400> 44

    Val Ser Ile Ile Lys Pro Ala Arg Val Pro Ser Leu Leu
55   1          5          10

    <210> 45
    <211> 7
60   <212> PRT
    <213> Artificial

```

<220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 5 <400> 45
 Lys Pro Ala Arg Val Pro Ser
 1 5
 10
 <210> 46
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 46
 20
 Arg Val Pro Ser Leu Leu
 1 5
 25
 <210> 47
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial
 30
 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 47
 35
 Lys Pro Arg Ala Val Pro
 1 5
 40
 <210> 48
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 45 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 48
 Pro Ala Arg Val Pro
 50 1 5
 <210> 49
 <211> 4
 55 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
 <400> 49

```

Ile Arg Val Pro
1

5
<210> 50
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial
10
<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<400> 50
15
Arg Val Pro Ser
1

20
<210> 51
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial

25
<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<400> 51
30
Arg Val Pro
1

35
<210> 52
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

40
<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<400> 52
45
Pro Ser Val Pro Gly Ser
1          5

50
<210> 53
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

55
<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<400> 53

Gly Leu Lys His Pro Ser
1          5
60

```

```

5    <210>  54
      <211>  11
      <212>  PRT
      <213>  Artificial

      <220>
      <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

10   <400>  54
      Arg Ile Val Pro Ala Ile Pro Val Ser Leu Leu
      1             5             10

15   <210>  55
      <211>  3
      <212>  PRT
      <213>  Artificial

20   <220>
      <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

      <220>
      <221>  misc_feature
25   <222>  (1)..(1)
      <223>  Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, H, R, S, T, O,
      Cit, Hci, Dab, Dpr, ou compostos a base de glicina com grupos
      funcionais básicos substituídos no N-terminal.

30   <220>
      <221>  misc_feature
      <222>  (2)..(2)
      <223>  Xaa é selecionado do grupo consistindo de V, I, K, P, e H.

35   <400>  55

      Xaa Xaa Pro
      1

40   <210>  56
      <211>  4
      <212>  PRT
      <213>  Artificial

45   <220>
      <223>  PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

      <220>
50   <221>  misc_feature
      <222>  (1)..(1)
      <223>  Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, H, R, S, T, O,
      Cit, Hci, Dab, Dpr, ou compostos a base de glicina com grupos
      funcionais básicos substituídos no N-terminal.

55   <220>
      <221>  misc_feature
      <222>  (2)..(2)
      <223>  Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, I, L, V, K, P, G,
60   H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle e onde Xaa pode ser N-
      metilado.

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
5 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de I, V, P.

<400> 56

Xaa Xaa Xaa Pro
10 1

<210> 57
<211> 5
15 <212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO
20

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de S, P , I, R, C, T,
25 L, V, A, G, K, H, R, O, C, M, e F.

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
30 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, H, R, S, T, O,
Cit, Hci, Dab, Dpr, ou compostos a base de glicina com grupos
funcionais básicos substituídos no N-terminal.

<220>
35 <221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, I, L, V, K, P, G,
H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle e onde Xaa pode ser N-
metilado.
40

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de I, V, P.
45

<400> 57

Xaa Xaa Xaa Xaa Pro
1 5
50

<210> 58
<211> 5
<212> PRT
55 <213> Artificial

<220>
<223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

60 <220>
<221> misc_feature

```

<222> (1)..(1)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr, ou compostos a base de glicina com grupos funcionais básicos substituídos no N-terminal.

5

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, I, L, V, K, P, G, H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle e onde Xaa pode ser N-metilado.

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de I, V, P.

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, A*,G, S, L, F, K, C, I, V, T, Y, R, H, O, e M, onde A* denota D aminoácido de A.

20

<400> 58
 Xaa Xaa X3 Pro Xaa
 1 5

25

<210> 59
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

35

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, I,R, H, O, L, V, A, e G.

40

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de S, P, R, T, H, K, O, L, V, A, G, S, I.

45

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr, ou compostos a base de glicina com grupos funcionais básicos substituídos no N-terminal.

50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(4)

55

<223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, I, L, V, K, P, G, H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle e onde Xaa pode ser N-metilado.

5 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de I, V, P.

10 <400> 59

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro
 1 5

15 <210> 60
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> PEPTÍDEO IMUNOLÓGICO

<220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de S, R, K, H, O, T, I, L, V, A, e G.

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de K, H, R, S, T, O, Cit, Hci, Dab, Dpr, ou compostos a base de glicina com grupos
 35 funcionais básicos substituídos no N-terminal.

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 40 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, I, L, V, K, P, G, H, R, S, O, Dab, Dpr, Cit, Hci, Abu, Nva, Nle e onde Xaa pode ser N-metilado.

<220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de I, V, P.

<220>
 50 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa é selecionado do grupo consistindo de A, V, I, L, G, K, H, R, O, S, T, e F.

55 <400> 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa
 1 5

60

REIVINDICAÇÕES

1. Peptídeo isolado, caracterizado por compreender a sequência de aminoácidos da TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta.

5 2. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ter um terminal C modificado e/ou um terminal N modificado.

3. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por ter um terminal C modificado.

10 4. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado por ter um terminal C aminado.

5. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender a sequência de aminoácidos da TABELA 1 modificada por pelo menos uma substituição de um aminoácido D.

6. Agente caracterizado por reagir com o peptídeo da reivindicação 1.

7. Agente, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por ser um anticorpo.

20 8. Agente, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por ser um anticorpo monoclonal.

9. Molécula de ácido nucléico isolado, caracterizada por codificar o peptídeo da reivindicação 1.

10. Construção de ácido nucléico recombinante, caracterizada por compreender a molécula de ácido nucléico da reivindicação 9 ligada operacionalmente a um vetor de expressão.

11. Pelo menos uma célula hospedeira caracterizada por compreender a construção de ácido nucléico recombinante da reivindicação 10.

12. Método para a produção de um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos listada na TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta, o referido método caracterizado por compreender as etapas de:

5 (a) cultivo de pelo menos uma célula hospedeira da reivindicação 11, sob condições que permitem a expressão do peptídeo; e

(b) recuperação do peptídeo de pelo menos uma célula hospedeira ou meio de cultura desta.

10 13. Composição farmacêutica, caracterizada por compreender o peptídeo da reivindicação 1 e um veículo, diluente ou excipiente farmacêuticamente aceitável.

15 14. Método para tratamento e/ou prevenção de infecção em um indivíduo, caracterizado por compreender a administração ao indivíduo de um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos listada na TABELA 1 ou um análogo, derivado ou variante desta.

20 15. Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que o peptídeo tem a seqüência de aminoácidos dos IDS. DE SEQ. Nºs: 1, 3-16, 18-60.

16. Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que o peptídeo modula a imunidade inata no indivíduo tratando ou prevenindo, dessa forma, a infecção no indivíduo.

25 17. Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que a infecção é uma infecção microbiana.

30 18. Método, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que a infecção é selecionada do grupo que consiste em uma infecção por uma bactéria, uma

infecção por um fungo, uma infecção por um parasita e uma infecção por um vírus.

19. Método, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que a bactéria é uma bactéria Gram-positiva ou Gram-negativa.

20. Método, de acordo com a reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que a bactéria é selecionada do grupo que consiste em *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. e enterococo resistente à vancomicina.

21. Método, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que o fungo é selecionado do grupo que consiste em um bolor, uma levedura e um fungo superior.

22. Método, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que o parasita é unicelular ou multicelular.

23. Método, de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o parasita é selecionado do grupo que consiste em *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayentanensis* e *Toxoplasma gondii*.

24. Método, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que o vírus está associado a uma condição selecionada do grupo que consiste em AIDS, gripe aviária, varicela, lesões por herpes simples, resfriado comum, gastroenterite, febre glandular, influenza, infecção do trato respiratório inferior, sarampo, caxumba, faringite, pneumonia, rubéola, SARS e infecção do trato respiratório superior.

25. Método, de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o vírus é o vírus sincicial respiratório (RSV).

26. Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem, ou está em risco de ter, infecção.

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que o peptídeo é administrado por via oral, parenteral, transdérmica, intranasal, por administração pulmonar, ou por bomba osmótica.

28. Método para prever se um indivíduo responderia ao tratamento para uma infecção microbiana ou um distúrbio relacionado à imunidade, onde o tratamento compreende a administração ao indivíduo de um peptídeo que compreende uma seqüência de aminoácidos da TABELA 1 ou de um análogo, derivado ou variante desta, o método caracterizado pelo fato de que compreende o teste de uma amostra diagnóstica do indivíduo quanto à atividade de DPPIV por administração à amostra do peptídeo da invenção na presença de um substrato de DPPIV sob condições que permitiriam que a DPPIV reagisse com o substrato, em que a redução da atividade de DPPIV, comparada com um controle sem o peptídeo, é indicativa de que o indivíduo responderia ao tratamento.

29. Peptídeo isolado, caracterizado por compreender uma seqüência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste nos IDS. DE SEQ. N^{os}: 1-60.

30. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação 29, caracterizado por compreender a seqüência de aminoácidos é selecionada do grupo que consiste nos IDS. DE

SEQ. N^{os}: 1, 3-16, 18-60.

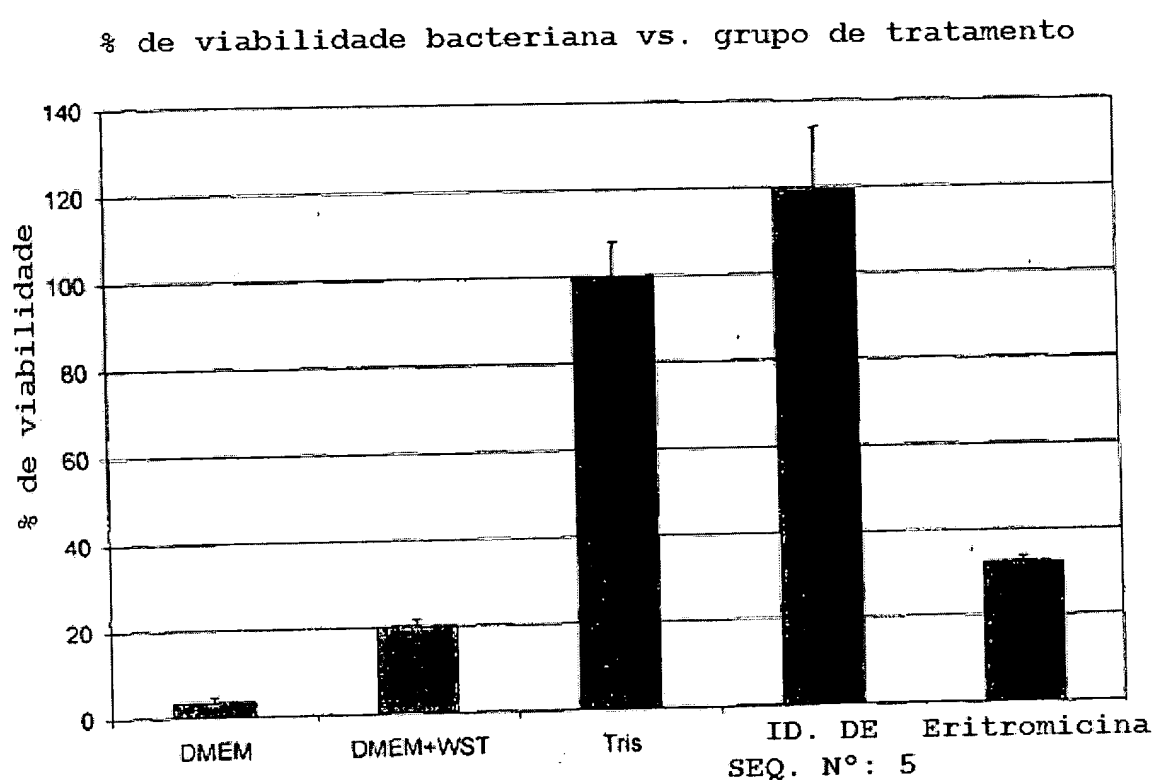
31. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácidos é selecionada do grupo que consiste nos IDS, DE
5 SEQ. N^{os}: 1, 3-16, 18-54.

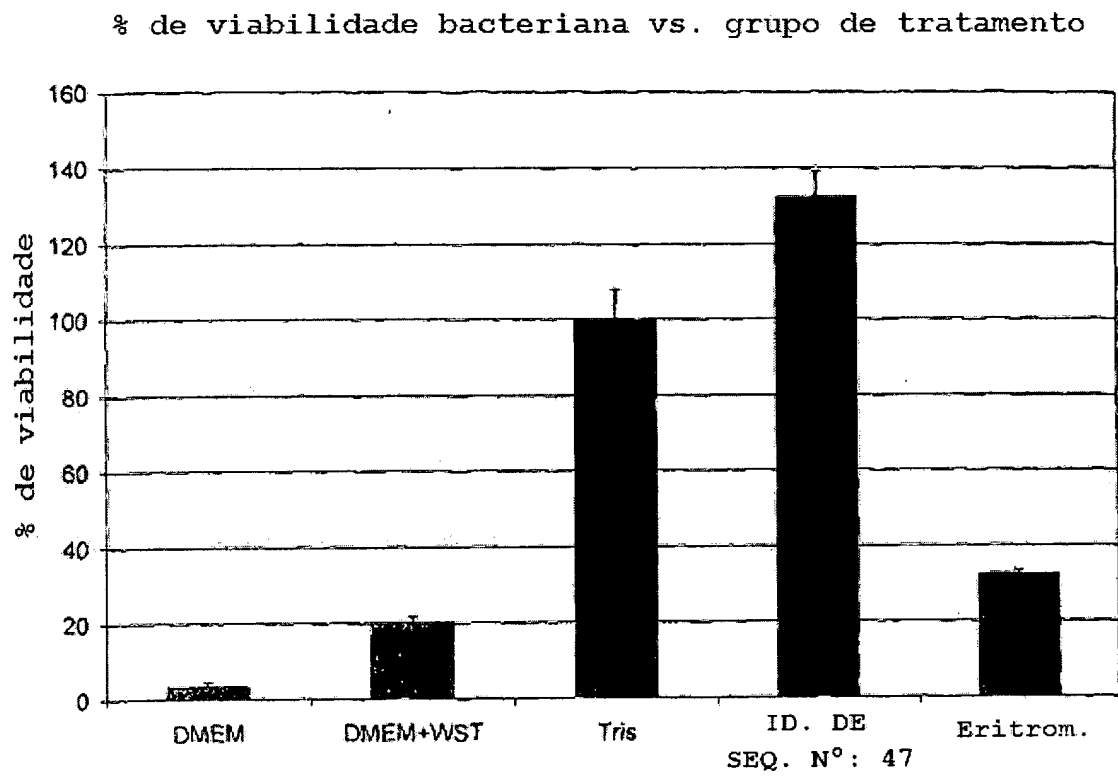
32. Peptídeo isolado, de acordo com qualquer uma das reivindicações 29 ou 30, caracterizado por compreender atividade imunológica.

33. Peptídeo isolado, de acordo com a reivindicação
10 32, caracterizado por consistir em até 10 aminoácidos.

34. Uso de um peptídeo isolado de qualquer uma das reivindicações 32 ou 33, caracterizado por ser para o tratamento de uma condição relacionada à DPPIV.

35. Uso de um peptídeo de qualquer uma das
15 reivindicações 32 ou 33, caracterizado por ser para o tratamento de uma infecção ou uma condição relacionada à imunidade inata.

**FIG. 1A**

**FIG. 1B**

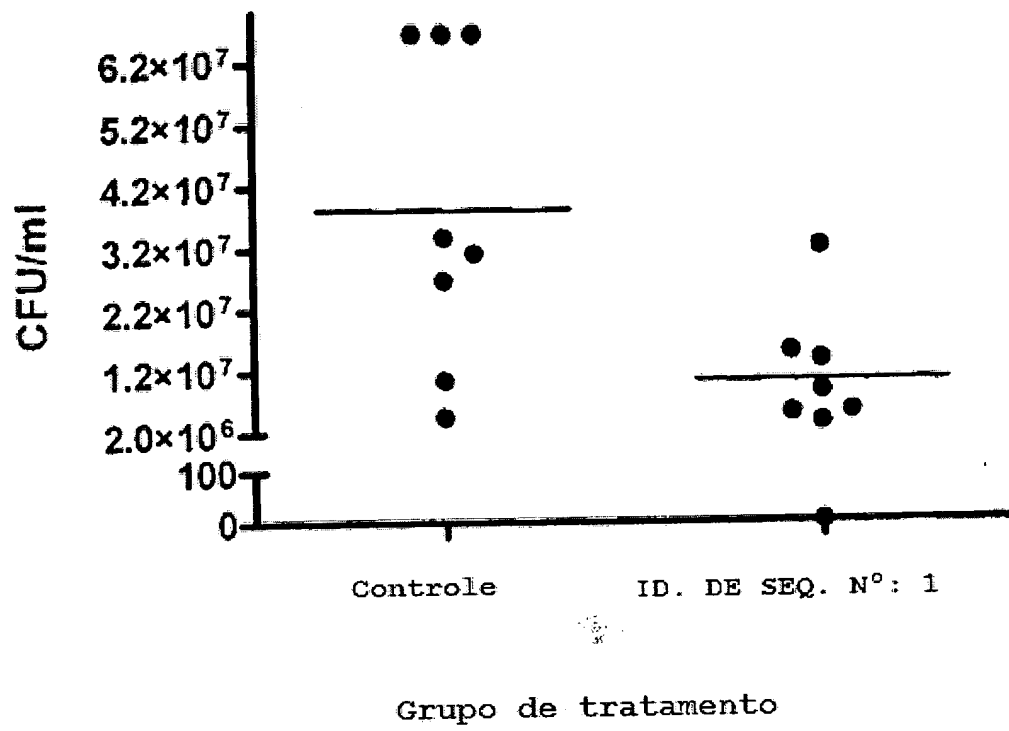


FIG. 2A

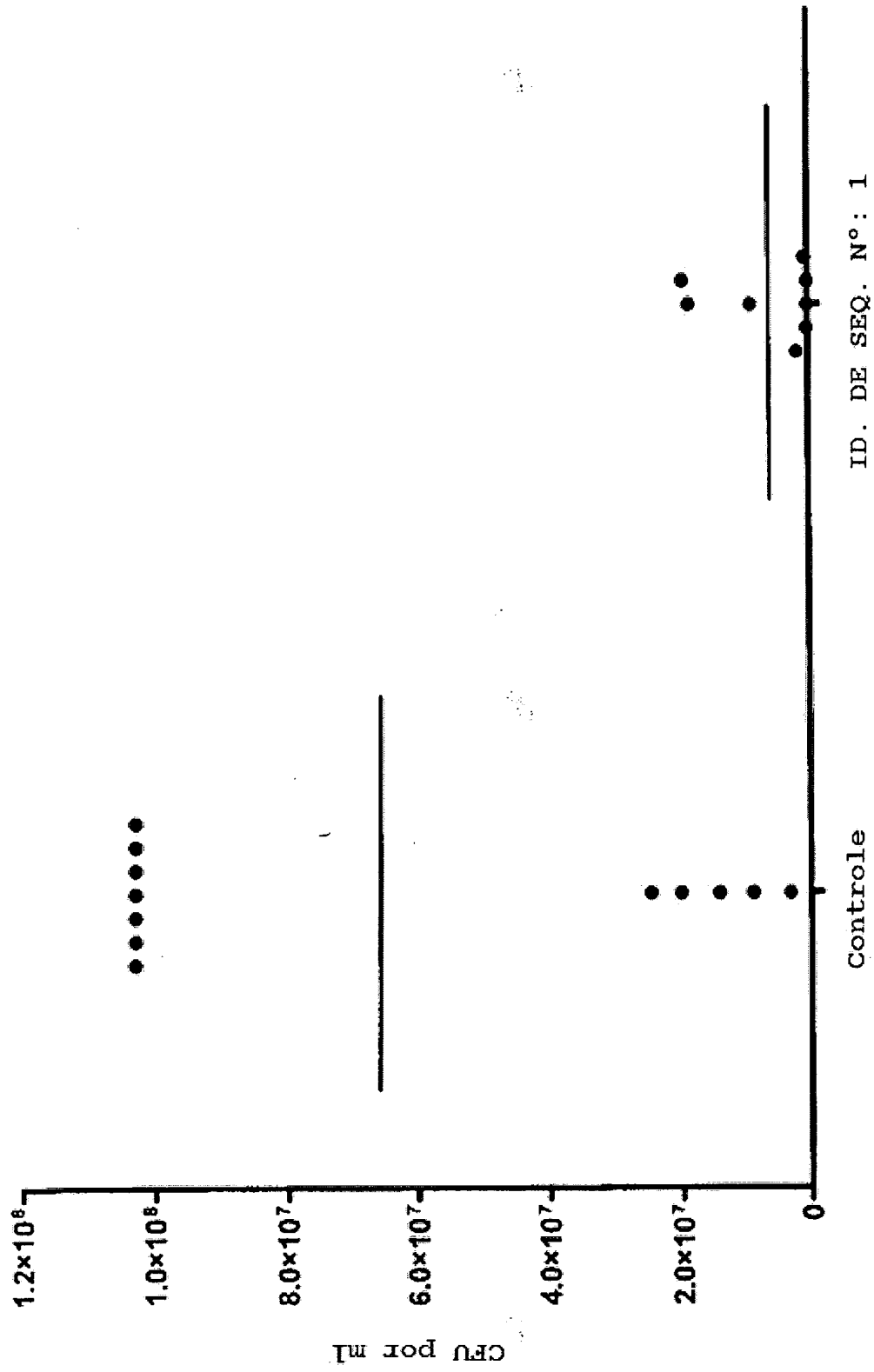


FIG. 2B

FIG. 2C

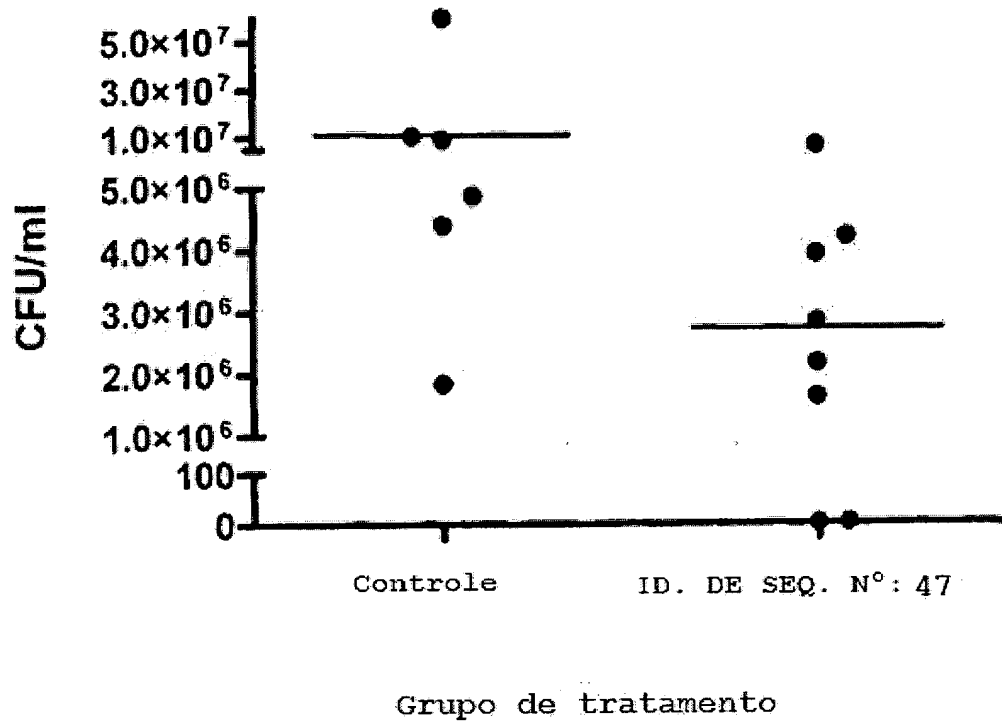


FIG. 2D

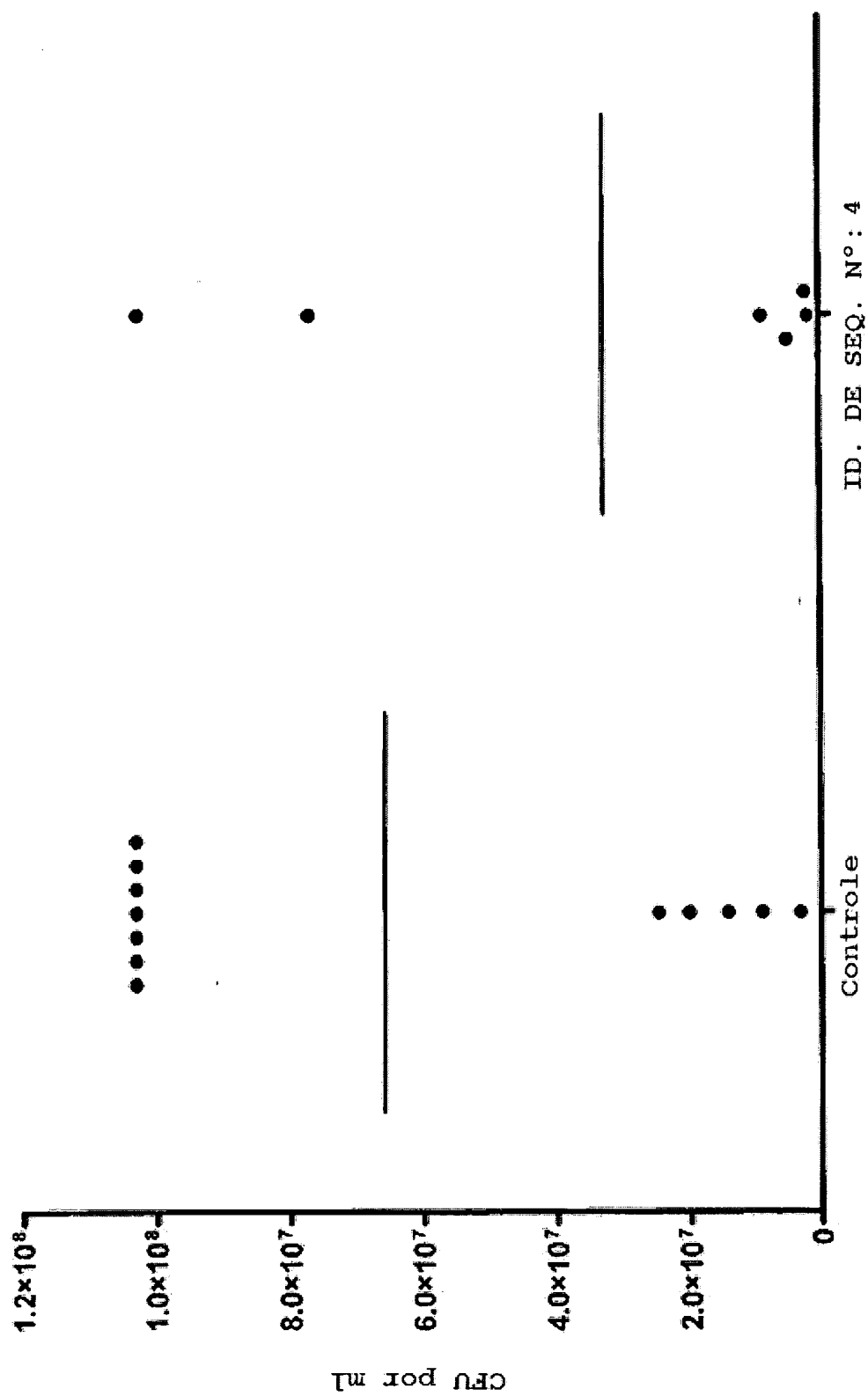


FIG. 2E

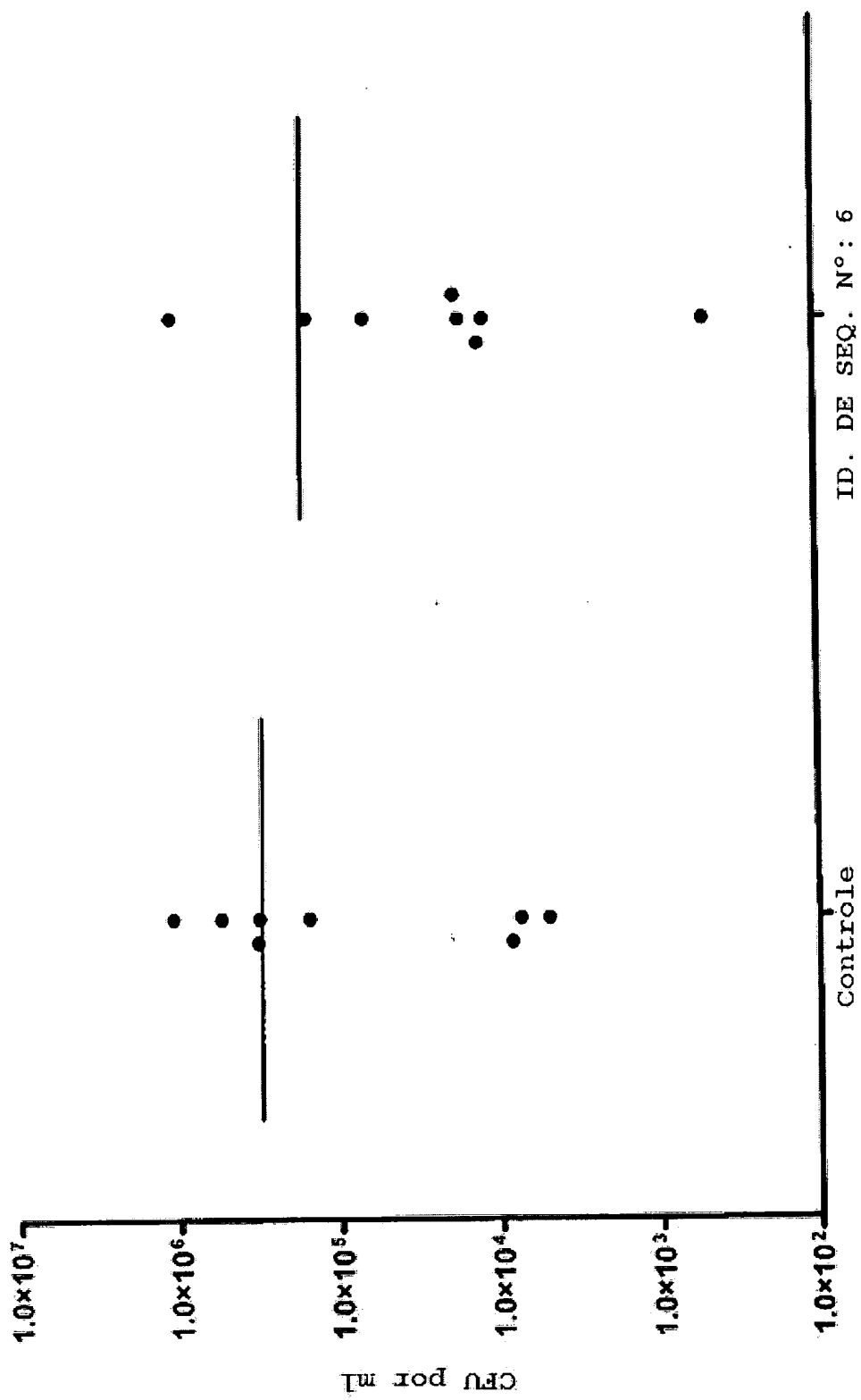


FIG. 2F

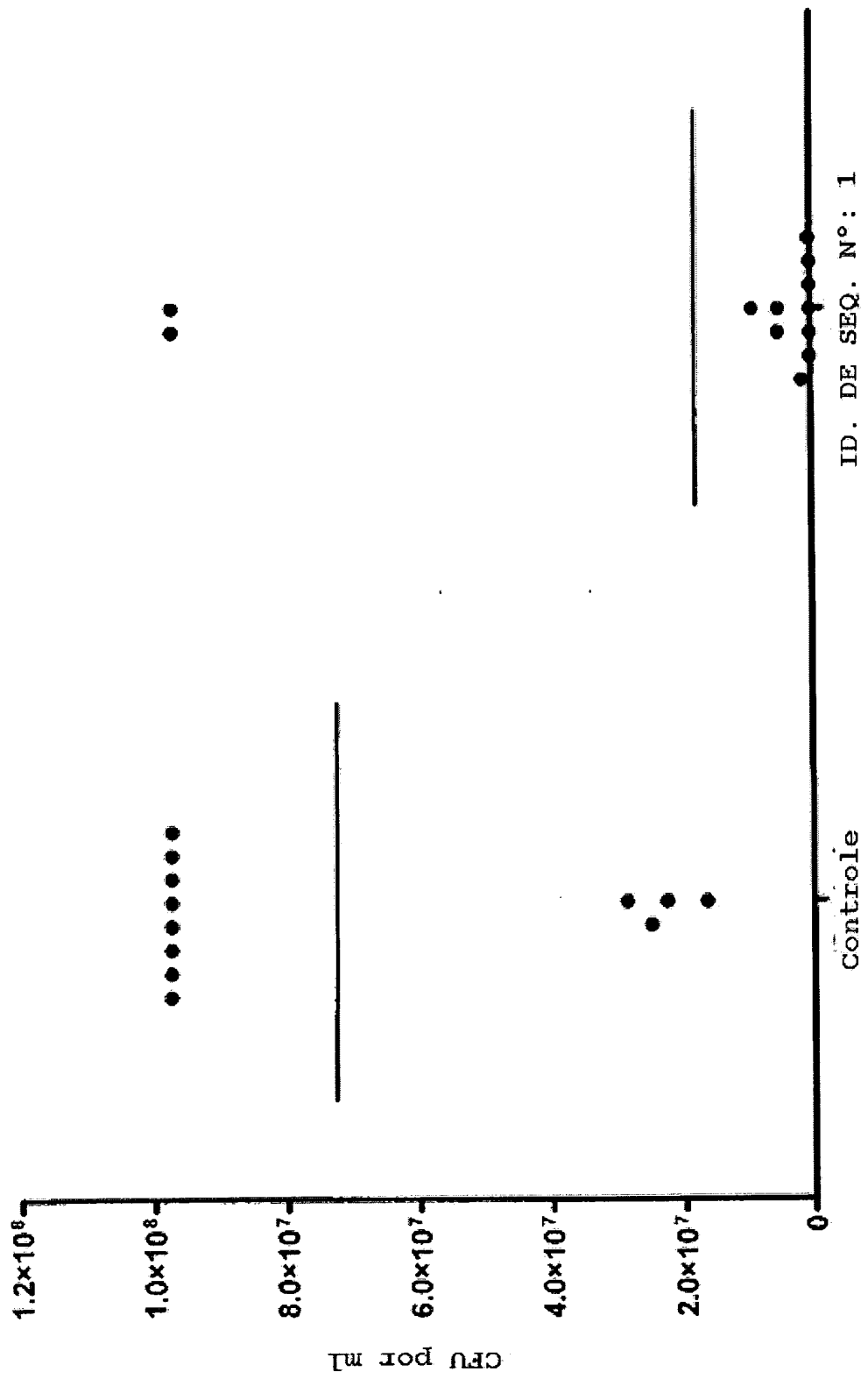


FIG. 3A

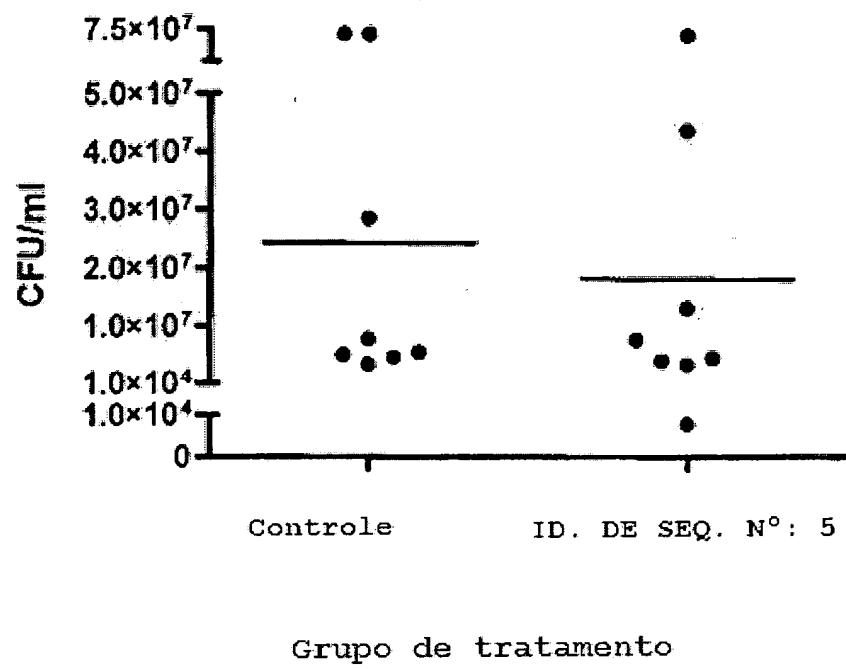


FIG. 3B

PEPTÍDEOS INÉDITOS PARA TRATAMENTO E PREVENÇÃO DE
DISTÚRBIOS RELACIONADOS AO SISTEMA IMUNOLÓGICO, INCLUINDO O
TRATAMENTO E A PREVENÇÃO DE INFECÇÃO POR MODULAÇÃO DA
IMUNIDADE INATA

5 Em um aspecto, a presente invenção fornece peptídeos
isolados inéditos que podem ser usados para modular a
imunidade inata em um indivíduo e/ou para o tratamento de
um distúrbio relacionado ao sistema imunológico, incluindo
o tratamento e a prevenção de infecção por modulação da
10 imunidade inata. Também são fornecidos um agente reativo
com o peptídeo, uma composição farmacêutica que inclui o
peptídeo, uma molécula de ácido nucléico isolado que
codifica o peptídeo, uma construção de ácido nucléico
recombinante que inclui a molécula de ácido nucléico, pelo
15 menos uma célula hospedeira que compreende a construção de
ácido nucléico recombinante e um método de produção do
peptídeo com o uso da célula hospedeira. A presente
invenção ainda fornece um método para tratamento e/ou
prevenção de infecção em um indivíduo por administração do
20 peptídeo da invenção ao indivíduo modulando, dessa forma, a
imunidade inata no indivíduo. Adicionalmente, a presente
invenção fornece um método para prever se um indivíduo
responderia ao tratamento com um peptídeo da invenção.