



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 347 627**

② Número de solicitud: 200900694

⑤ Int. Cl.:  
**A61K 38/10** (2006.01)  
**A61P 17/00** (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **06.03.2009**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **02.11.2010**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**02.11.2010**

⑦ Solicitante/s: **ISDIN, S.A.**  
**Avda. Diagonal, 520**  
**08006 Barcelona, ES**

⑦ Inventor/es: **Insa Boronat, Raúl;**  
**Quintanilla Ávila, Miguel y**  
**Dotor de las Herrerías, Javier**

⑦ Agente: **Zea Checa, Bernabé**

⑤ Título: **Péptido para el tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales.**

⑤ Resumen:

Péptido para el tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales. Comprende un péptido inhibidor del TGF- $\beta$ 1 para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales, donde el péptido es disitertida o un derivado de la misma, así como una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del péptido para dicho uso.

ES 2 347 627 A1

## DESCRIPCIÓN

Péptido para el tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales.

5 La invención se refiere al tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales. Más particularmente, la invención se refiere al uso de un péptido inhibidor del TGF- $\beta$ 1 para el tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales, preferentemente mediante su aplicación tópica.

## Estado de la técnica anterior

10 El cáncer de piel es un crecimiento maligno de determinados tipos celulares de la piel que puede tener muchas causas, siendo la inducción por radiación solar una de las más conocidas. El cáncer de piel generalmente se desarrolla en la epidermis, la capa más externa de la piel, pudiendo también localizarse en dermis. Los tipos más comunes de cáncer de piel son el carcinoma de células basales (CCB), el carcinoma de células escamosas (CCE) y el melanoma.  
15 El carcinoma de células basales tiende a ser de crecimiento lento y raramente se propaga. El carcinoma de células escamosas suele ser más agresivo que el cáncer de células basales, siendo más probable que se extienda a otras partes del cuerpo. El tipo de cáncer de piel más peligroso es el melanoma, especialmente el melanoma maligno, que puede ser fatal si no se trata de forma temprana. El cáncer de piel es uno de los cánceres de crecimiento más rápido y supera en número al cáncer de pulmón, de mama, colorectal y de próstata.

20 El factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) es una citoquina multifuncional que regula una variedad de procesos celulares, tales como la proliferación celular, la diferenciación, la apoptosis, la remodelación de tejidos y la angiogénesis.

25 Diferentes modelos experimentales con ratones genéticamente modificados (W. Cui *et al.*, "TGFbeta1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice", *Cell* 1996, vol. 86, pp.531-542), complementados por estudios *in vitro* en keratinocitos cultivados (G. Portella *et al.*, "Transforming growth factor beta is essential for spindle cell conversion of mouse skin carcinoma *in vivo*: implications for tumor invasión", *Cell. Growth. Differ.* 1998, vol. 9, pp. 393-404), sugieren que el TGF- $\beta$ 1 tiene una doble  
30 función en la carcinogénesis de la piel, actuando como un supresor de la formación de tumores benignos en los primeros estadios del desarrollo tumoral y como un estimulador de la progresión maligna en las últimas etapas de la carcinogénesis, promoviendo la invasión y la metástasis (R.J. Akhurst *et al.*, "Genetic events and the role of TGF beta in epithelial tumour progression", *J. Pathol.* 1999, vol. 187, pp.82-90). Por tanto, es de esperar que la inhibición de dicho factor en las últimas etapas de la carcinogénesis tenga un efecto supresor sobre la progresión maligna, mientras  
35 que su inhibición en los estadios iniciales del desarrollo tumoral debería tener un efecto estimulador en la formación de tumores benignos y en su progresión a carcinoma maligno.

En el documento WO 00/31135 se describe por primera vez el péptido P144 (cuya DCI es disitertida, SEQ ID NO: 1). También se describe que dicho péptido es útil para el tratamiento de enfermedades hepáticas, más concretamente  
40 para el tratamiento de la fibrosis hepática.

El documento WO07048857 describe el uso de la disitertida como agente modulador de la respuesta inmune y para el tratamiento del cáncer. El uso de disitertida para el tratamiento del cáncer está de acorde con los estudios mencionados anteriormente que sugieren el efecto estimulador del factor sobre la progresión maligna en las últimas  
45 etapas de la carcinogénesis.

Sin embargo, en la actualidad sigue existiendo una necesidad de alternativas terapéuticas de aplicación tópica para el tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales, para evitar así la progresión a carcinoma, que sean efectivas y bien toleradas.

## Resumen de la invención

50 Sorprendentemente, se ha encontrado que determinados péptidos inhibidores del TGF- $\beta$ 1 inhiben por una parte la formación de tumores de la piel en estadios iniciales y, por otra, su posterior progresión a carcinoma. Particularmente, se ha encontrado que la disitertida inhibe la formación de papilomas y retarda su progresión a carcinoma en ratones.

Aunque se conoce que la disitertida podría ser útil para el tratamiento del cáncer en estadios avanzados, en el estado de la técnica no se menciona o sugiere nada relacionado con el uso de la disitertida para el tratamiento de tumores de la piel en estadios iniciales.

60 Así, un aspecto de la invención se refiere a un péptido inhibidor del TGF- $\beta$ 1 para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales, donde el péptido es disitertida o un derivado de la misma.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del péptido definido anteriormente, junto con al menos un excipiente, diluyente o vehículo; farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios  
65 iniciales.

Finalmente, otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido definido anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales en un mamífero, incluyendo un humano.

5 Este último aspecto de la invención se relaciona con un método para prevenir o tratar en un mamífero, incluido un humano, un tumor de la piel en un estadio inicial, en particular un papiloma o la queratosis actínica, donde el método comprende aplicar en la piel del mamífero una composición que [ comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del péptido definido anteriormente, junto con diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En una realización preferida el mamífero presenta un tumor de la piel en un estadio inicial y el método comprende aplicar  
10 la composición en la piel del mamífero para tratar el tumor y evitar su progresión a carcinoma. En otra realización preferida el mamífero no presenta un tumor de la piel y el método comprende aplicar la composición en la piel del mamífero para prevenir el tumor.

### Descripción detallada de la invención

15 Tal como se deriva de los ejemplos, la aplicación tópica de un péptido según la invención sobre la piel de ratones utilizados como modelo animal protege del desarrollo tanto de papilomas benignos como de CCEs inducidos por DM-BA/TPA. Por tanto, dichos resultados demuestran que los péptidos de la presente invención son útiles en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales, tales como los papilomas o la queratosis actínica. Los péptidos de la invención son preferiblemente aplicables en la piel de un humano, aunque si se desea pueden aplicarse asimismo en la piel de mamíferos en general.

Entre los péptidos inhibidores de TGF- $\beta$ 1 de la presente invención se incluye la secuencia SEQ ID NO: 1 (disitertida) o un derivado de la misma. La disitertida (DCI del péptido P144) se describe por primera vez en el documento WO  
20 00/31135. Tal como se describe en dicho documento, la disitertida comprende los aminoácidos 730-743 del receptor de tipo III del TGF- $\beta$ 1 (número de acceso Q03167, SwissProt).

El término “tumor en estadio inicial” se refiere a tumores confinados en el lugar de desarrollo que no han invadido tejidos circundantes, o a aquellos que han invadido pero en los que la zona de la invasión está confinada a un área  
30 localizada. Esta definición es aplicable a la gran mayoría de cánceres, incluido el cáncer de piel. La queratosis actínica o solar se considera el estadio más inicial para el desarrollo del cáncer de piel. Más concretamente, la queratosis actínica se considera un precáncer y es el principal precursor del CCE. Los papilomas de la piel se consideran otro tipo de tumor en estadio inicial, constituyendo tumores benignos no cancerosos.

35 El término “derivado de disitertida” incluye fragmentos, análogos y homólogos mamíferos de la secuencia SEQ ID NO: 1, siempre y cuando mantengan su capacidad de inhibir la actividad biológica del TGF- $\beta$ 1. La capacidad de los péptidos de la invención de inhibir la actividad biológica del TGF- $\beta$ 1 se puede evaluar y, si se desea, cuantificar, mediante el ensayo de inhibición del crecimiento de la línea celular Mv-1-Lu, una línea celular derivada de epitelio pulmonar de visión cuya proliferación es inhibida por el TGF- $\beta$ 1, tal como se describe en WO 00/31135.

40 El término “fragmento” significa cualquier secuencia de aminoácidos más corta en al menos un aminoácido que la secuencia de origen SEQ ID NO: 1 y que comprende una longitud de aminoácidos consecutivos, preferentemente de al menos 6 residuos, de la secuencia de origen.

45 El término “análogo” incluye péptidos en los que uno o más aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 han sido reemplazados por un aminoácido diferente. Son preferidas las sustituciones conservativas de aminoácidos. Las sustituciones conservativas son aquellas donde un residuo de aminoácido se sustituye por otro residuo biológicamente similar. Ejemplos de sustituciones conservativas incluyen la sustitución de un residuo hidrofóbico tal como isoleucina, valina, leucina o metionina por otro, o la sustitución de un residuo polar por otro tal como entre arginina y lisina, entre  
50 glutámico y aspártico o entre glutamina y asparragina. Las sustituciones conservativas también incluyen el uso de un aminoácido sustituido en lugar de un aminoácido no sustituido, siempre que se mantengan la capacidad del péptido de inhibir la actividad biológica del TGF- $\beta$ 1. También se incluyen como análogos, péptidos que presentan inserciones o deleciones de uno o más aminoácidos en la SEQ ID NO: 1. Estas modificaciones (sustituciones, deleciones o inserciones) pueden representarse en un grado de homología de un péptido determinado respecto a la SEQ ID NO: 1. Por tanto, entre los péptidos inhibidores de TGF- $\beta$ 1 de la presente invención también se incluyen péptidos que presenten al menos un 75% de homología con la secuencia de aminoácidos de la disitertida, preferentemente, al menos un 85% de homología y, más preferentemente, al menos un 90% de homología con dicho péptido, siempre y cuando se mantenga la capacidad de inhibir la actividad biológica del TGF- $\beta$ 1. Además, los péptidos de la invención pueden presentar modificaciones químicas en los aminoácidos. También se incluyen como análogos, péptidos de fusión híbridos o dímeros  
60 que comprendan la secuencia SEQ ID NO: 1 o sus fragmentos.

El término “homólogo de mamífero” incluye péptidos con la misma función biológica de especies diferentes a la humana. Así, un péptido homólogo de mamífero de la disitertida es el péptido P54, con secuencia SEQ ID NO: 2, que comprende los aminoácidos 731-742 del receptor tipo III de rata del TGF- $\beta$ 1 (número de acceso P26342, SwissProt).  
65 De acuerdo con el documento WO 00/31135 la disitertida es equivalente al péptido P54. La capacidad tanto para la disitertida como para el péptido P54 para actuar como inhibidores del TGF- $\beta$ 1 ha sido demostrada previamente, tal como se describe en el documento WO 00/31135.

En una realización preferida, el péptido para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales es disitertida (SEQ ID NO: 1).

Preferentemente, el péptido de la presente invención es útil como inhibidor de la generación de papilomas de la piel y de su progresión a carcinoma. Más preferentemente aún, el péptido de la presente invención es útil para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de la queratosis actínica.

Los péptidos de la invención pueden obtenerse por métodos convencionales, por ejemplo, mediante técnicas de síntesis química sobre fase sólida y purificarse mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), por ejemplo, tal como tal como se describe en WO 00/31135. Si se desea, se pueden analizar mediante técnicas convencionales, por ejemplo, mediante secuenciación y espectrometría de masas, análisis de aminoácidos, resonancia magnética nuclear, etc. Alternativamente, los péptidos de la invención pueden obtenerse mediante la tecnología del ADN recombinante.

Dentro del alcance de esta invención se encuentran las sales farmacéuticamente aceptables del péptido de la invención. El término “sales farmacéuticamente aceptables” incluye las sales habitualmente utilizadas para formar sales metálicas o sales de adición de ácidos. La naturaleza de la sal no es crítica siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables del péptido de la invención pueden obtenerse a partir de ácidos o bases, orgánicos o inorgánicos. Dichas sales pueden obtenerse por métodos convencionales bien conocidos por los técnicos en la materia.

La administración del péptido puede llevarse a cabo mediante cualquier vía de administración. Preferentemente, la administración del péptido de la invención se realiza por vía tópica.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del péptido de la invención junto con al menos un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales. La composición farmacéutica de la presente invención puede contener uno o más péptidos de la invención, opcionalmente, junto con uno o más compuestos inhibidores del TGF- $\beta$ 1 alternativos. Dicha composición farmacéutica es útil para su administración en el cuerpo de un mamífero, preferentemente en el cuerpo humano. Preferentemente, la composición farmacéutica de la presente invención es una composición tópica, y puede presentarse, por ejemplo, en forma de loción, pomada, gel, crema, parche o spray.

La cantidad de péptido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo que puede estar presente en la composición farmacéutica de la presente invención puede variar dentro de un amplio intervalo. La dosificación para el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales con los péptidos y/o composiciones farmacéuticas de la invención dependerá de numerosos factores, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la enfermedad o alteración patológica, la ruta y frecuencia de administración y del péptido de la invención a administrar.

El uso de los péptidos de la invención en la elaboración de dicha composición farmacéutica constituye un aspecto adicional de esta invención.

En una realización preferida, la invención se relaciona con el uso de un péptido de la invención para la fabricación de un medicamento para inhibir la generación de papilomas y su progresión a carcinoma. En otra realización preferida, la invención se relaciona con el uso de un péptido de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento preventivo o terapéutico de la queratosis actínica.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos.

Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención.

### Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 representa imágenes de la piel dorsal de ratones tratados representativos de grupos diferentes, según se describen en los ejemplos.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

## Ejemplo 1

*Preparación de una formulación tópica*

5 Se preparó una formulación tópica vehículo y otra que contenía disitertida (300 µg/g). La formulación vehículo se preparó mezclando los siguientes componentes: un 10% de dimeticona, un 43,5% de parafina líquida, un 0,02% de metilparabeno, un 0,01% de propilparabeno, un 0,5% de cetrimida y un 1,5% de alcohol cetosteárico. Esta mezcla se calentó a 50-60°C y se emulsionó con agua purificada hasta el 100% (también a 50-60°C). La formulación de disitertida se preparó de la misma manera, salvo porque el agua se substituyó por una mezcla de agua más un 0,03% de disitertida previamente disuelta en 0,2 ml de dimetilsulfóxido (0,22% p/p).

## Ejemplo 2

15 *Efecto de la disitertida sobre la formación de papilomas y sobre el desarrollo y progresión de papilomas ya establecidos*

*Materiales y métodos*20 *Animales*

Se utilizaron ratones albino suizo hembras (de 4-6 semanas de edad) adquiridos a Harían S.L. (Barcelona, España). Antes de ser tratados, los animales se sometieron a un período de adaptación de 1-2 semanas bajo condiciones de temperatura y humedad convencionales. Se les proporcionó agua estéril y una dieta estándar *ad libitum*. Todos los experimentos animales fueron aprobados y realizados según las guías institucionales para el cuidado y uso de animales para experimentación.

*Carcinogénesis química*

30 Se utilizó el protocolo de carcinogénesis de la piel química en dos etapas en ratón. La piel de ratón es un tejido epitelial con ciertas ventajas como modelo experimental para estudiar los cambios asociados al desarrollo neoplásico. Dicho protocolo supone el tratamiento de ratones con una única dosis de un iniciador carcinógeno, concretamente 7,12-dimetilbenz(a)antraceno (DMBA), seguido de repetidas aplicaciones del promotor tumoral 12-O-tetradecanoil forbol-13-acetato (TPA). Este tratamiento da lugar a la aparición de tumores benignos (papilomas). La mayoría de los papilomas benignos desaparecen o regresan, pero una pequeña fracción de los mismos (5-10%) progresan a carcinomas de células escamosas (CCE) malignos, que atraviesan la membrana basal e invaden progresivamente la dermis subyacente, el tejido subcutáneo y el músculo.

40 Los tumores se indujeron sobre la piel dorsal afeitada de ratones de 6-8 semanas de edad mediante una única aplicación tópica de DMBA (32 µg en 200 µl de acetona) seguida del tratamiento dos veces por semana con 12,5 µg de TPA en 200 µl de acetona (10<sup>-4</sup> M) durante 12 semanas. Grupos de ratones se trataron adicionalmente con una formulación tópica en forma de crema que contenía o no disitertida, tal como se especifica a continuación. Cada semana se registró el número de tumores de un diámetro superior a 2 mm en cada ratón. Al final del experimento los animales fueron anestesiados y sacrificados (32 semanas después de la iniciación con DMBA), y los tumores se fijaron en formaldehído al 10% y se embebieron en parafina para la realización de los estudios histológicos.

*Diseño experimental para los tratamientos con disitertida*

50 Con el fin de evaluar un potencial efecto promotor en tumores de la disitertida, se substituyó el TPA por un tratamiento con una formulación tópica en forma de crema que contenía disitertida (grupo 2, formado por 5 animales) o únicamente con vehículo (grupo 1, compuesto de 5 ratones) durante la fase de promoción de la carcinogénesis química. De forma similar, se analizó la posible actividad carcinógena de la disitertida sobre un grupo de 5 ratones mediante aplicaciones repetidas de disitertida cada dos días durante 23 semanas. Debido a que los papilomas aparecen alrededor de las 7-8 semanas post-iniciación, los ratones iniciados con DMBA y promovidos con TPA se trataron adicionalmente con disitertida cada 2 días durante 4 y 12 semanas (grupos de 5 y 6, respectivamente, 10 animales cada uno), con el fin de evaluar si la disitertida podría prevenir contra la carcinogénesis de la piel. El tratamiento con disitertida se inició en la misma semana en la que los ratones se iniciaron con DMBA (semana 0) y se realizaron aplicaciones en días alternos con respecto al TPA. Como control, un grupo de ratones (grupo 4, compuesto de 5 animales) se trató únicamente con vehículo (crema control) durante 12 semanas. Finalmente, un grupo de animales con tumores (grupo 7, compuesto de 10 animales) se trató con disitertida cada 2 días durante 20 semanas desde la semana 12 hasta la semana 32 después de la iniciación con DMBA. Este grupo de ratones se incluyó para evaluar un posible efecto anti-tumoral del péptido. La disitertida se aplicó a una dosis de 60 µg en 200 µl de la formulación tópica en forma de crema, excepto para los ratones del grupo 7 en el que la dosis de disitertida se aumentó hasta 120 µg (en 400 µl de crema).

*Resultados*

Grupos de ratones se sometieron a carcinogénesis química de la piel mediante iniciación con una dosis única de DMBA seguida de promoción dos veces por semana con TPA durante 12 semanas. Este tratamiento dio lugar a la aparición de múltiples papilomas desde las 8 semanas después de la iniciación con DMBA. Dos grupos de animales se trataron adicionalmente cada 2 días con una crema que contenía disitertida durante 4 y 12 semanas empezando el mismo día de la iniciación con DMBA (grupos 5 y 6, respectivamente). En ambos casos se observó una reducción del 30-60% en la aparición de papilomas benignos con respecto a los ratones no tratados (grupo 3) o los ratones tratados únicamente con vehículo (grupo 4), tal como puede verse a las 10 y 14 semanas post-iniciación (Tabla 1, Fig. 1). De forma interesante, el tratamiento más corto con disitertida (4 semanas) tuvo un efecto más profundo en la inhibición del número y el tamaño de los papilomas.

Asimismo se ensayó si la disitertida podía sustituir al TPA como promotor de la carcinogénesis. Con este objetivo, ratones iniciados con DMBA se promovieron con la crema que contenía disitertida o únicamente con vehículo durante 12 semanas (grupos 2 y 1, respectivamente). Como resultado, no se indujo ningún tumor en estos grupos, exceptuando dos ratones del grupo 1 promovidos únicamente con vehículo que espontáneamente desarrollaron un tumor pequeño (< 5 mm de diámetro) cada uno a las 30 semanas post-iniciación (Tabla 1). La disitertida tampoco mostró ningún efecto dañino en la piel normal después de repetidas aplicaciones cada 2 días durante más de 20 semanas (datos no mostrados). Estos resultados indican que la aplicación de la disitertida sobre la piel en una formulación tópica en forma de crema no inicia o promueve la carcinogénesis. Por el contrario, la aplicación tópica de la disitertida presentó un efecto protector frente a la carcinogénesis de la piel química.

Con el fin de analizar el efecto de la disitertida en el desarrollo y la progresión de papilomas ya establecidos, se incluyó un grupo de ratones (grupo 7) en el que la aplicación de la disitertida se inició en la semana 12 después de la iniciación con DMBA, cuando cada ratón tenía aproximadamente 7-8 papilomas de media (Tabla 1), y se prolongó durante 20 semanas. No se observó ninguna reducción significativa en el número o tamaño de papilomas en este grupo. De hecho, después de 14 semanas post-iniciación, el número medio de tumores de más de 2 mm de diámetro por ratón tendió a equipararse en todos los grupos (Tabla 1). Lo mismo ocurrió con el número medio de tumores de más de 5 mm de diámetro (Tabla 2). Sin embargo, a las 32 semanas post-iniciación, el número tanto de tumores de un diámetro superior a 2 mm como de tumores de un diámetro superior a 5 mm era, en general, más reducido en los grupos tratados con disitertida. De nuevo, la reducción más significativa se observó en el grupo tratado durante 4 semanas post-iniciación (Tablas 1 y 2).

Los papilomas iniciales son generalmente pequeños (ver Fig. 1), pero conforme crecen adoptan una estructura tipo coliflor con una base estrecha o una base ancha. Por otro lado, los CCEs son normalmente tumores endofíticos que se presentan como placas con una superficie ulcerada. En base a estas características, se examinó la presencia de carcinomas en cada ratón cada semana. Tal como se muestra en la Tabla 3, el primer carcinoma observable en los ratones de control (grupos 3 y 4) y en los ratones tratados con disitertida durante 4 semanas (grupo 5) se produjo en las semanas 17-18 post-iniciación. De forma remarcable, los ratones tratados con disitertida durante las semanas 12 a 32 (grupo 7, que tenían papilomas en el inicio del tratamiento, mostraron un retraso de unas 14 semanas en la primera aparición de carcinomas. Los ratones tratados con disitertida durante 12 semanas post-iniciación (grupo 6) tenían un retraso inferior de unas 6 semanas. Estos resultados demuestran que la aplicación de disitertida sobre la piel no sólo previene la formación de tumores sino que también pospone su conversión maligna.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 347 627 A1

TABLA 1

*Efecto de la disitertida en el desarrollo de un tumor de la piel en ratón después carcinogénesis en dos etapas*

Grupo	Nº de ratones	Carcinogénesis (iniciador: DMBA)	Tratamiento		Nº medio de tumores por ratón a las semanas indicadas post-iniciación			
			Promotor	Crema	Período de tiempo (semanas)	10	14	25
1	5	crema control	-	-	0.0	0.0	0.0	0.4
2	5	crema disitertida	-	-	0.0	0.0	0.0	0.0
3	10	TPA	-	-	6.4	11.9	9.4	10.7
4	5	TPA	Control	0-12	8.4	11.8	12.6	13.5
5	10	TPA	disitertida	0-4	2.3	7.0	10.3	7.8
6	10	TPA	disitertida	0-12	4.7	8.1	8.1	8.7
7	10	TPA	disitertida	12-32	6.8	12.6	10.2	8.8

TABLA 2

*Evolución del tamaño del tumor en ratones sometidos a carcinogénesis con DMBA/TPA carcinogénesis y tratados o no con disitertida*

Grupo	Nº de ratones	Tratamiento		Nº medio de tumores por ratón de un diámetro >5 mm a las semanas indicadas post-iniciación		
		Crema	Período de tiempo (semanas)	14	25	32
3	10	-	-	1.6	4.2	3.9
4	5	Control	0-12	0.0	3.8	5.0
5	10	disitertida	0-4	0.1	3.3	2.3
6	10	disitertida	0-12	0.2	3.3	3.7
7	10	disitertida	12-32	0.7	3.1	3.8

## ES 2 347 627 A1

TABLA 3

*Aparición del primer carcinoma en ratones sometidos a carcinogénesis por DMBA/TPA y tratados o no con disitertida*

5

10

15

20

Grupo	Nº de ratones	Tratamiento		Semanas post-iniciación*
		Crema	Período de tiempo (semanas)	
3	10	-	-	17
4	5	Control	0-12	18
5	10	disitertida	0-4	18
6	10	disitertida	0-12	24
7	10	disitertida	12-32	32

25

\* El tiempo de aparición de los carcinomas se estimó mediante observación visual

30

Los resultados mencionados realizados en ratones muestran que la disitertida puede proteger contra la carcinogénesis de la piel química. La aplicación tópica de disitertida sobre la piel durante la promoción de tumores con TPA redujo la aparición temprana de papilomas benignos. Además, cuando la formulación tópica que comprendía disitertida se aplicó directamente sobre la superficie de los tumores, se retrasó su conversión de papilomas a carcinomas malignos. Estos resultados demuestran el efecto protector de la disitertida contra la aparición de cáncer de piel.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Péptido inhibidor del TGF- $\beta$ 1 para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales, donde el péptido es disitertida o un derivado de la misma.
2. Disitertida para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales.
- 10 3. Péptido definido en las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso como inhibidor de la generación de papilomas de la piel y de su progresión a carcinoma.
4. Péptido definido en las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de la queratosis actínica.
- 15 5. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del péptido definido en las reivindicaciones 1 ó 2, junto con al menos un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales.
- 20 6. Uso del péptido definido en las reivindicaciones 1 ó 2 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales en un mamífero, incluyendo un humano.
7. Uso del péptido definido en las reivindicaciones 1 ó 2 para la fabricación de un medicamento para inhibir la generación de papilomas de la piel y su progresión a carcinoma.
- 25 8. Uso del péptido definido en las reivindicaciones 1 ó 2 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento preventivo o terapéutico de la queratosis actínica.

30

35

40

45

50

55

60

65

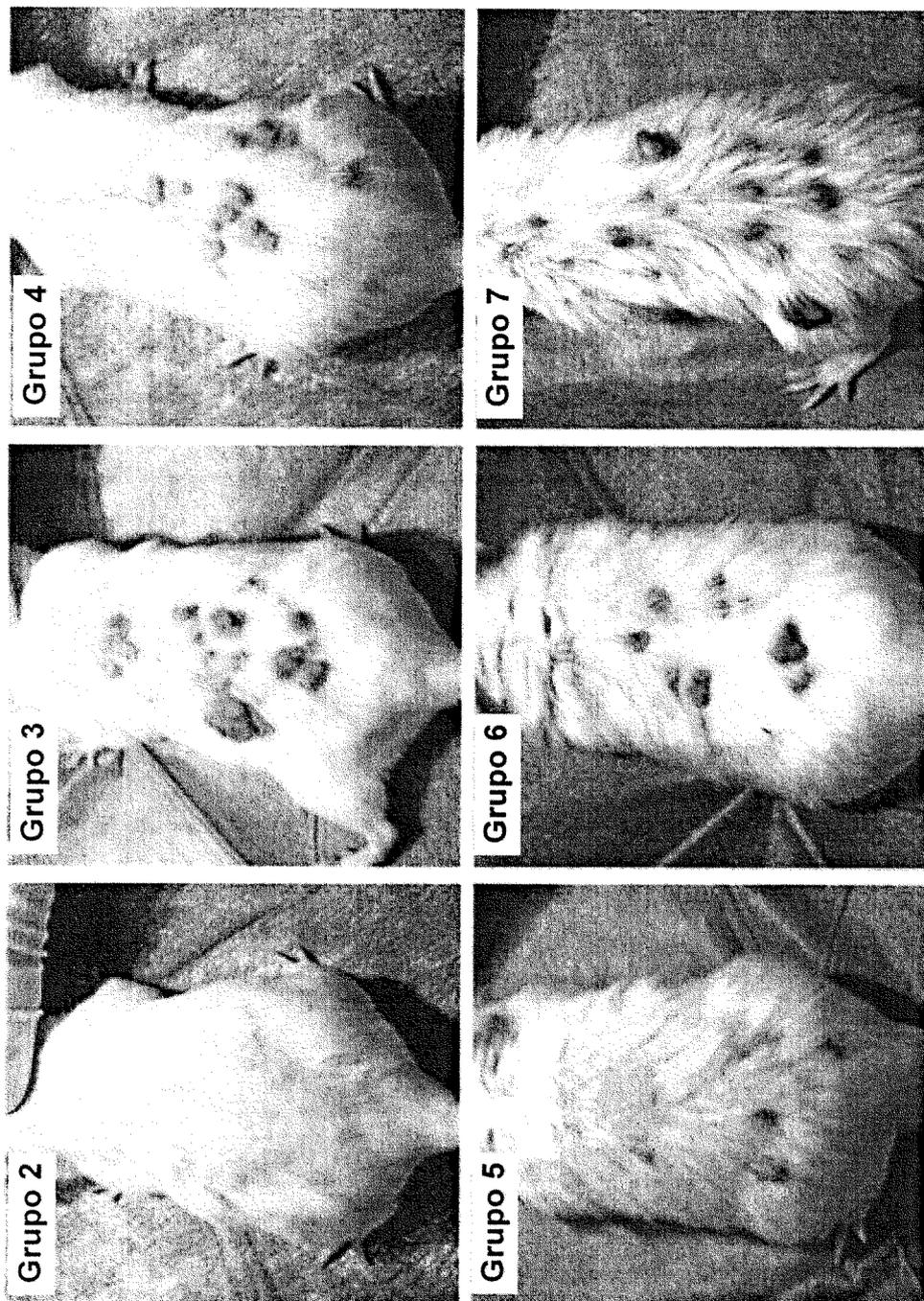


Fig. 1

# ES 2 347 627 A1

## LISTA DE SECUENCIAS

<110> ISDIN, S.A.

5 <120> Péptidos para el tratamiento profiláctico o terapéutico de tumores de piel en estadios iniciales

<130> P1353ES00

10 <160> 2

<170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1

<211> 14

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido disitertida

25 <400> 1

Thr Ser Leu Asp Ala Ser Ile Ile Trp Ala Met Met Gln Asn  
1 5 10

30

<210> 2

<211> 12

<212 > PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> péptido P54

40

<400> 2

Thr Ser Leu Asp Ala Thr Met Ile Trp Thr Met Met  
1 5 10

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 347 627

② Nº de solicitud: 200900694

③ Fecha de presentación de la solicitud: 06.03.2009

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A61K 38/10** (2006.01)  
**A61P 17/00** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	SANTIAGO, B. et al. "Topical application of a peptide inhibitor of transforming growth factor-beta 1 ameliorates bleomycin-induced skin fibrosis". J. INVEST. DERMATOL. 01.09.2005. Vol. 125, Nº. 3, páginas 450-455; péptido P144.	1-4
X	SERRATI, S. et al. "TGF beta 1 antagonistic peptides inhibit TGF beta 1-dependent angiogenesis". BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY. 01.03.2009. Vol. 77, Nº. 5, páginas 813-825; péptido P144.	1-4
A	CUI, W. et al. "TGF beta 1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice". CELL. 23.08.1996. Vol. 86, Nº. 4, páginas 531-542; todo el documento.	1-8

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

28.05.2010

Examinador

M. Novoa Sanjurjo

Página

1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, REGISTRY, HCAPLUS, BIOSIS, GOOGLE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.05.2010

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones 1-4	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones 1-4	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión:**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

**Consideraciones:**

La invención consiste en un péptido inhibidor del TGF-beta1 (disitertida o un derivado de la misma), para su uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de tumores de la piel en estadios iniciales.

**1. Documentos considerados:**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	SANTIAGO, B. et al. "Topical application of a peptide inhibitor of transforming growth factor- beta 1 ameliorates bleomycin-induced skin fibrosis". J.INVEST.DERMATOL. 01.09.2005. Vol. 125, N°. 3, páginas 450-455.	- -
D02	SERRATI, S. et al. "TGF beta1 antagonistic peptides inhibit TGF beta1-dependent angiogenesis". BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY. 01.03.2009. Vol. 77, N°. 5, páginas 813-825.	- -
D03	CUI, W. et al. "TGF beta 1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice". CELL. 23.08.1996. Vol. 86, N°. 4, páginas 531-542.	- -

## Observaciones sobre documentos:

El documento D01, describe el efecto curativo del péptido de SEQ ID n 1, denominado P144 en la publicación, cuando se aplica tópicamente a fibrosis cutánea inducida con bleomicina.

El documento D02, describe la actividad proangiogénica del TGF-beta1 en células endoteliales (MVEC) promoviendo la neovascularización. El uso de dos péptidos antagonistas de TGF-beta1, uno de ellos disitertida P144, inhibe la respuesta proangiogénica in vitro e in vivo y deja abierta la posibilidad de su uso terapéutico pendiente de ensayos posteriores.

El documento D03, describe que el TGF-beta1 actúa como supresor del tumor los primeros estadios del cáncer de piel en ratones transgénicos, pero posteriormente promueve la progresión de las células tumorales.

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

## NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA

## Reivindicaciones 1-4

El péptido disitertida es conocido en el estado de la técnica. En el documento D01, se describe su efecto curativo en fibrosis cutáneas. El mismo péptido, se utiliza en un ensayo descrito en el documento D02 en el que actúa como inhibidor de la actividad proangiogénica del TGF-beta1; por lo tanto, las reivindicaciones 1-4 en la forma en que están redactadas, haciendo mención al producto disitertida "per se", carecen de novedad y de actividad inventiva. Las reivindicaciones 1-4, no cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva de acuerdo a los Art. 6 y 8 de la LP.

## Reivindicaciones 5-8

No se ha encontrado en el estado de la técnica ningún documento relacionado con el uso tópico de disitertida en el cáncer de piel o en lesiones de piel precancerosas. Las reivindicaciones 5-8, cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva de acuerdo a los Art. 6 y 8 de la LP.