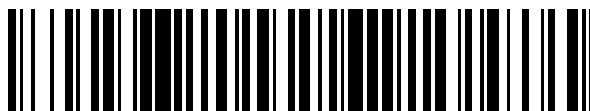


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 268**

51 Int. Cl.:

A61K 38/08 (2006.01)

C07K 7/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2011** **E 11802732 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.09.2015** **EP 2654768**

54 Título: **Péptidos para tratar cáncer**

30 Prioridad:

21.12.2010 EP 10196278

21.12.2010 US 974958

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
30.12.2015

73 Titular/es:

GENE SIGNAL INTERNATIONAL SA (100.0%)
Parc Scientifique EPFL PSE-A
1015 Lausanne, CH

72 Inventor/es:

AL-MAHMOOD, SALMAN y
COLIN, SYLVIE

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 555 268 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Péptidos para tratar cáncer

Campo de la Invención

- 5 La presente invención está relacionada con péptidos, composiciones que comprenden los mismos y el uso de los mismos para tratar cáncer.

Antecedentes de la invención

- 10 Muchos factores de crecimiento y hormonas tales como el factor de crecimiento de los nervios (NGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF) y la insulina pueden mediar sus señales a través de interacciones con la superficie celular de los receptores de tirosina quinasa. La transducción de señales extracelulares a través de la membrana, iniciadas por enlazamiento de ligando, conlleva a la propagación de múltiples eventos de señalización los cuales finalmente controlan rutas bioquímicas objetivo dentro de la célula.

- 15 Las fosfatidilinositol 3-quinosas (PI3Ks) representan una familia ubicua de quinosas lipídicas heterodiméricas que se encuentran en asociación con el dominio citoplásmico de los receptores de hormonas y factores de crecimiento y con productos oncogénicos. Las PI3Ks actúan como efectores corriente abajo de estos receptores, son reclutados tras la estimulación del receptor y son mediadores de la activación de rutas de señalización del segundo mensajero a través de la producción de derivados fosforilados de inositol (Fry, Biochim. Biophys. Acta. 1994, 1226:237-268).

- 20 Las PI3Ks clase I están compuestas de una homología-2 Src contenedora de dominio una subunidad regulatoria kDa 85 (p85) y una subunidad catalítica 110-kDa (p110), la cual cataliza la fosforilación de fosfatidilinositol en la posición D3 del anillo de inositol (Cantley, Science 296:1655-1657 (2002); Carpenter and Cantley, Curr. Opin. Cell Biol., 8:153-8 (1996)).

- 25 Las PI3Ks juegan un papel central en un amplio rango de efectos biológicos incluyendo transformación celular mediada por factores de crecimiento, mitogénesis, tráfico de proteínas, supervivencia y proliferación celular, síntesis de ADN, apoptosis, y transporte de glucosa estimulado por insulina (revisado en Fry, Biochim. Biophys. Acta., 1994, 1226, 237-268). Su aparente participación en tantas rutas dispares de señalización sugiere que puede proveer una función de señalización más general y facilitadora, tal como la elección de un complejo activo como objetivo, en lugar de controlar directamente esta miríada de eventos.

- 30 Inhibidores de proteínas que están involucrados en la señalización de PI3K han sido sugeridos como agentes terapéuticos. Ejemplos de dichos inhibidores incluyen wortmanina, demetoxiviridina, quercetina y LY294002. Estos inhibidores tienen como objetivo primario la subunidad p110 y muestran toxicidad y una corta vida media que limita su uso en pruebas clínicas.

- 35 Una aproximación alternativa a estos inhibidores ha sido inhibir específicamente la expresión de rutas de proteínas importantes por interferencia de ARN, como la inhibición específica de la expresión de p85 por siARN. Kotani et al. (EMBO J, 1994, 13(10):2313-21) revela péptidos que comprenden un motivo pYX1X2X1 que consiste de YMPM, YMMM o YNMN. Kotani et al., muestra que estos péptidos inhiben la asociación entre p85 de la PI3 quinasa activada de la proteína IRS-1 (en células KB cancerosas).

- 40 El objetivo de la presente invención era encontrar inhibidores alternativos a la señalización de PI3K. Preferiblemente, dichos inhibidores presentarían las siguientes ventajas: alta estabilidad, una mejor penetración/difusión celular que los siARNs, y una mejor vida media que los siARNs.

Los inventores hicieron la sorprendente observación de que los péptidos que tienen un motivo fosforilado YX₁X₂X₁ como se define de aquí en adelante son capaces de reducir el tamaño de un tumor in vivo.

- 45 Las secuencias que tienen residuos de fosfotirosina en el contexto del motivo YMXM son conocidas por enlazarse a los dominios de SH2. Se describe que p85 posee dos dominios SH2 y se describe que el enlace de estos dominios de SH2 a residuos de fosfotirosina en el contexto del motivo de YMXM activa p85 y p110 llevando a la catálisis de la fosforilación de fosfatidilinositol (PtdIns) produciendo PtdIns(3), PtdIns(3,4)P₂ y PtdIns (3,4,5)P₃.

- 50 Los péptidos sintéticos que contienen un motivo YMXM fosforilado son conocidos en el arte por activar la PI3K in vitro (White et al. 1994 The Journal of Biological Chemistry 269 (7):1-4). Como se conoce que

la activación de la señalización de PI3K está implicada en el desarrollo de cáncer, la persona experta en el arte no habría estado así inclinada a usar péptidos que activaran la señalización de PI3K para tratar cáncer.

Resumen

- 5 Un objeto de la invención es un péptido que comprende un motivo GpYMFMS fosforilado (SEQ ID NO:37), donde dicho péptido comprende desde 6 a 20 aminoácidos.

Otro objetivo de la invención es una composición farmacéutica que comprende un péptido desde 6 a 20 aminoácidos que comprende un motivo GpYMFMS fosforilado (SEQ ID NO: 37).

- 10 Otro objeto de la presente invención es una composición farmacéutica como se describe arriba para tratar cáncer.

Otro objeto de la presente invención es una composición farmacéutica como se describe arriba para tratar una enfermedad relacionada con angiogénesis seleccionada de un grupo que comprende enfermedad ocular neovascular, aterosclerosis, artritis, psoriasis, obesidad y enfermedad de Alzheimer.

- 15 Otro objeto de la presente invención es una composición farmacéutica como se describe arriba que comprende adicionalmente por lo menos un agente citotóxico, quimioterapéutico o anticáncer.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

- 20 Como se usa aquí, el término "péptido" se refiere a una secuencia de aminoácidos desde 2 aminoácidos a 50 aminoácidos. Preferiblemente, el péptido comprende desde 3 aminoácidos a 45 aminoácidos, más preferiblemente desde 3 a 40 aminoácidos, aún más preferible desde 4 a 30 aminoácidos. Realizaciones particularmente preferidas incluyen péptidos que comprenden desde 4 a 20 aminoácidos, tales como desde 5 a 15 aminoácidos o desde 5 a 10 aminoácidos. Un péptido "aislado" se refiere a uno que ha sido removido de su ambiente natural o a uno que ha sido diseñado por una persona experta en el arte. Como se usa aquí, los "aminoácidos" están representados por su nombre completo, su código de tres letras o su código de una letra como es bien conocido en el arte. Los
- 25 residuos de aminoácido en péptidos son abreviados como sigue: Fenilalanina como Phe o F; Leucina como Leu o L; Isoleucina como Ile o I; Metionina como Met o M; Valina como Val o V; Serina como Ser o S; Prolina como Pro o P; Treonina como Thr o T; Alanina como Ala o A; Tirosina como Tyr o Y; Histidina como His o H; Glutamina como Gln o Q; Asparagina como Asn o N; Lisina como Lys o K; Ácido aspártico como Asp o D; Ácido glutámico como Glu o E; Cisteína como Cys o C; Triptófano como Trp o W; Arginina como Arg o R; y Glicina como Gly o G. El término "aminoácidos" incluye tanto los
- 30 aminoácidos naturales como los sintéticos, y los aminoácidos D y L. "Aminoácido estándar" o "aminoácido de origen natural" significa cualquiera de los veinte aminoácidos L estándar comúnmente encontrados en péptidos de origen natural "Residuo de aminoácido no estándar" significa cualquier
- 35 aminoácido, a excepción de los aminoácidos estándar, sin importar si son preparados sintéticamente o derivados de una fuente natural. Por ejemplo, la naftilalanina puede ser sustituida por triptófano para facilitar la síntesis. Otros aminoácidos sintéticos que pueden ser sustituidos incluyen, pero no están limitados a, L-hidroxipropilo, L-3-4-dihydroxifenilalanina, aminoácidos alfa tales como L-alfa-hidroxilisilo y D-alfa-metilalanina, L-alfa-metilalanina, aminoácidos beta, como isoquinolilo.
- 40 Como se usa aquí, "aminoácido" también incluye a los aminoácidos modificados químicamente, incluyendo pero no limitándose a sales, derivados de aminoácidos (tales como amidas), y sustituciones. Los aminoácidos contenidos dentro de los péptidos de la presente invención, y particularmente en el terminal carboxi o amino, pueden ser modificados por metilación, amidación, acetilación o sustitución con otros grupos químicos que pueden cambiar la vida media circulante del péptido sin afectar
- 45 adversamente su actividad. Adicionalmente, un enlace disulfuro puede estar presente o ausente en los péptidos de la invención.

- Los péptidos de la invención pueden incluir aminoácidos estándar naturales o aminoácidos no estándar. Miméticos de péptidos incluyen péptidos que tienen las siguientes modificaciones: i) péptidos donde uno o más de los enlaces $-C(O)NR$ -peptídico han sido remplazados por un enlace no peptídico tal como un enlace carbamato $-CH_2-$ ($-CH_2OC(O)NR-$) un enlace fosfonato, un enlace sulfonamida- CH_2- ($-CH_2S(O)_2NR-$), un enlace de urea ($-NHC(O)NH-$), un enlace de amina secundaria- CH_2- , o con un enlace peptídico alquilado ($-C(O)NR-$) donde R es C_1 - C_4 alquilo; ii) péptidos donde el terminal N- es derivado a un grupo $-NRR^1$, a un grupo $-NRC(O)R$, a un grupo $-NRC(O)OR$, a un grupo $-NRS(O)_2R$, a un grupo $-NHC(O)NHR$ donde R y R^1 son hidrógeno o alquilo C_1 - C_4 con la condición que R y R^1 no
- 50

sean ambos hidrógeno; iii) péptidos donde el terminal C es derivado a $-C(O)R^2$ donde R^2 es seleccionado de un grupo que consiste de C_1-C_4 alcoxi, y $-NR^3R^4$ donde R^3 y R^4 son seleccionados independientemente del grupo que consiste de hidrogeno y C_1-C_4 alquilo.

5 Como es usado aquí, el término "sustitución conservativa de aminoácido" se define aquí como un intercambio de aminoácidos dentro de uno de los 5 grupos siguientes:

I. Residuos pequeños alifáticos, no polares o ligeramente polares: Ala, Ser, Thr, Pro, Gly;

II. Residuos polares cargados negativamente y sus amidas: Asp, Asn, Glu, Gln;

III. Residuos polares, cargados positivamente: His, Arg, Lys;

IV. Residuos grandes, alifáticos, no polares: Met, Leu, He, Val, Cys;

10 V. Residuos grandes, aromáticos: Phe, Tyr, Trp.

15 Como se usa aquí, el término "tratar" incluye profilaxis de un trastorno o una condición específica, o el alivio de síntomas asociados con un trastorno o condición específicos y/o prevenir o eliminar dichos síntomas. Un tratamiento "profiláctico" es un tratamiento administrado a un sujeto que no exhibe signos de una enfermedad o exhibe solamente signos tempranos de la enfermedad con el propósito de disminuir el riesgo de desarrollar la patología asociada con la enfermedad. Un tratamiento "terapéutico" es un tratamiento administrado a un sujeto que exhibe signos de patología con el propósito de disminuir o eliminar aquellos signos. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto es aquella cantidad de un compuesto que sea suficiente para proveer un efecto beneficioso para el sujeto al cual se administra el compuesto.

20 La invención

Un objeto de la presente invención es un péptido que comprende un motivo fosforilado $pYX_1X_2X_1$ (SEQ ID NO: 1), donde X_2 es F.

De acuerdo con la invención, la tirosina Y es fosforilada (pY).

25 De acuerdo con la invención, cada aminoácido X_1 en el motivo fosforilado $pYX_1X_2X_1$ corresponde a M (Metionina).

En una realización de la presente invención, dicho péptido es un motivo fosforilado GpYMFMS (SEQ ID NO: 37), donde dicho péptido comprende desde 6 a 20 aminoácidos.

30 En una realización de la presente invención, dicho péptido no es DDGpYMPMSPGV (SEQ ID NO: 2), NGDpYMPMSPGV (SEQ ID NO: 3), PNGpYMMMSPPSG (SEQ ID NO: 4), TGDpYMMNSPVG (SEQ ID NO: 5), SEEpYMNMDLGP (SEQ ID NO: 6), KKHTDDGpYMPMSPGVA (SEQ ID NO: 7), RKGNGDGpYMPMSPKSV (SEQ ID NO: 8), KKRVPNGpYMMMSPPSGS (SEQ ID NO: 9), KKKLPATGDpYMNMSPVGD (SEQ ID NO: 10), KKGSEEpYMNMDLGPGR (SEQ ID NO: 11), KKSREGDpYMTMQIG (SEQ ID NO: 12), KKSNGpYMTMQIG (SEQ ID NO: 13), EEEYMPMEDLY (SEQ ID NO: 29), DGGpYMDMSKDE (SEQ ID NO: 30), KKKEEEEEEpYMPMEDL (SEQ ID NO: 31), KKSREGDpYNIeTMQIG (SEQ ID NO: 32), TDDGpYMPMSPGV (SEQ ID NO: 41), DPNGpYMMMSPPSG (SEQ ID NO: 43), GNGDpYMPMSPKS (SEQ ID NO: 44), RENEpYMPMAPQIH (SEQ ID NO: 45), EEEEpYMPMEDLYL (SEQ ID NO: 46), TDDGpYMPMSPGVA (SEQ ID NO: 47), GNGDpYMPMSPKSV (SEQ ID NO: 48), SDGGpYMDMSKDES (SEQ ID NO: 49), RDGpYMTMQIG (SEQ ID NO: 50), IDVpYMIMVK (SEQ ID NO: 51), DGGpYMDMSKDE (SEQ ID NO: 52), HSDpYMNMTPR (SEQ ID NO: 53), NGDpYMPMSPKS (SEQ ID NO: 54), GDpYMPMSPKS (SEQ ID NO: 55), DpYMPMSPKS (SEQ ID NO: 56), pYMPMSPKS (SEQ ID NO: 57), pYMPMSP (SEQ ID NO: 58), pYMPMS (SEQ ID NO: 59), pYMPM (SEQ ID NO: 60), pYMPMSPAS (SEQ ID NO: 61), pYMPMSAKS (SEQ ID NO: 62), pYMPMAPKS (SEQ ID NO: 63) o pYAMSPKS SEQ ID NO: 64.

En una realización de la presente invención, dicho péptido no es GNGDpYMPMDPKS (SEQ ID NO: 42).

45 En otra realización de la invención, dicho péptido tiene una longitud de 20 aminoácidos, una longitud de 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 aminoácidos y comprende el motivo fosforilado GpYX₁FX₁S (SEQ ID NO: 15), donde cada X_1 es M.

En otra realización de la invención, dicho péptido PDSSTLHTDDGpYX₁FX₁SPGVAPVPSGRKGSG (SEQ ID NO: 22) o un fragmento de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7 o 6 aminoácidos que comprende el motivo fosforilado pYX₁FX₁ donde cada X₁ es independientemente M o Nle.

- 5 Los péptidos descritos aquí pueden ser producidos sintéticamente por síntesis química o síntesis enzimática como es bien conocido en el arte. Alternativamente, las secuencias nucleotídicas que codifican los péptidos de la invención pueden ser introducidas en un vector de expresión de proteína y producidas en un organismo huésped apropiado (por ejemplo, bacterias, células de insectos, etc.) y después purificadas. Un polipéptido adicional ("etiqueta") puede ser agregado con el propósito de purificar o identificar o purificar los péptidos. Las etiquetas de proteína hacen posible, por ejemplo, que
10 los polipéptidos sean adsorbidos, con alta afinidad, a una matriz, y a su vez que la matriz sea lavada rigurosamente con amortiguadores adecuados sin que el complejo sea eluido a cualquier punto significativo, y para que el complejo adsorbido subsecuentemente sea eluido selectivamente. Ejemplos de etiquetas de proteínas que son conocidas para aquellas personas expertas son una etiqueta (His)₆, una etiqueta Myc, una etiqueta FLAG, una etiqueta haemagglutinina, una etiqueta glutathionina transferasa (GST), inteína que tiene una etiqueta de afinidad de enlazamiento a quitina o una etiqueta de proteína de enlazamiento a maltosa (MBP). Estas etiquetas de proteínas pueden ser localizadas terminalmente en N, terminalmente en C y/o internamente.

Un objeto de la presente invención son los péptidos como son descritos arriba, siendo dichos péptidos modificados.

- 20 Los péptidos provistos aquí pueden ser modificados por medios bien conocidos en el arte.

- Por ejemplo, los péptidos pueden ser modificados agregando uno o más grupos funcionales tales como fosfato, acetato, o varios lípidos y carbohidratos. Los péptidos de la invención también pueden existir como derivados peptídicos. El término "derivado peptídico" se refiere al compuesto que tiene un grupo amino (-NH-), y más particularmente, un enlace peptídico. Los péptidos pueden ser vistos como
25 amidas sustituidas. Como el grupo amida, el enlace peptídico muestra un alto grado de estabilización por resonancia. El enlace simple C—N en el enlace peptídico tiene típicamente aproximadamente 40 por ciento carácter de doble enlace y el doble enlace C=O aproximadamente 40 por ciento carácter de enlace simple. "Grupos protectores" son aquellos grupos que previenen reacciones indeseadas (tales como proteólisis) que involucran grupos funcionales no protegidos. Ejemplos específicos de grupos protectores amino incluyen formilo, trifluoroacetilo; benciloxicarbonilo; benciloxicarbonilo sustituido tal como (orto- o para-) clorobenciloxicarbonilo y (orto- o para-) bromobenciloxicarbonilo; y oxicarbonilo alifático tal como t-butoxicarbonilo y t-amiloxicarbonilo. Los grupos carboxilos de aminoácidos pueden ser protegidos a través de la conversión a grupos éster. Los grupos éster incluyen ésteres de bencilo, ésteres de bencilo sustituidos tales como éster de metoxibencilo; ésteres de alquilo tales como éster de ciclohexilo, éster de cicloheptilo o éster t-butilo. La fracción de guanidino puede ser protegida por nitro; o arilsulfonilo tal como tosilo, metoxibencensulfonilo o mesitilenosulfonilo, aunque no necesita un grupo protector. Los grupos protectores de imidazol incluyen tosi, bencilo y dinitrofenilo. El grupo indol de triptófano puede ser protegido por formilo o puede no ser protegido.

- 40 La modificación de los péptidos tiene como objetivo en particular mejorar su tiempo de vida in vivo. Un tipo de modificación es la adición polietileno glicol (PEG) al terminal N o C de los péptidos. La persona experta en el arte sabe que el PEG tiene muchas propiedades que lo hacen un vehículo ideal para péptidos como alta solubilidad en agua, alta movilidad en solución y baja inmunogenicidad. Esta modificación también protege a los péptidos de exopeptidasas y por lo tanto aumenta su estabilidad general in vivo.

- 45 Las otras modificaciones usadas para prevenir la degradación de los péptidos por endopeptidasas o exopeptidasas incluyen modificaciones al terminal N tales como acetilación o glicosilación, modificaciones al terminal C tales como amidación y el uso de aminoácidos no naturales (aminoácidos β-amino y α-trifluorometilo) en sitios particulares dentro de los péptidos.

- 50 Otra alternativa para aumentar el tamaño molecular del péptido es la fusión genética de los péptidos al dominio Fc de la inmunoglobulina gamma humana o la fusión de los péptidos a la albúmina.

Otro objeto de la invención es una composición farmacéutica que comprende por lo menos uno de los péptidos como se describe arriba en combinación con excipientes farmacéuticamente aceptables, en donde dicho péptido comprende un motivo fosforilado pYX₁X₂X₁ (SEQ ID NO: 1), donde cada X₁ es M y X₂ es F.

- 55 En una realización de la invención, dicha composición farmacéutica comprende un péptido de 6 a 20 aminoácidos que comprende un motivo fosforilado GpYMFMS (SEQ ID NO: 37).

El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a compuestos y composiciones que pueden ser administradas a mamíferos sin toxicidad en exceso. Por lo tanto, un “excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a un excipiente que no produce una reacción adversa, alérgica o inapropiada cuando es administrado a un animal, preferiblemente un humano. Incluye cualesquiera y todos los

- 5 solventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos o antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de absorción y similares. Para la administración humana, las preparaciones deben cumplir con estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza como lo requiere la Oficina de estándares Biológicos de la FDA.
- 10 Excipientes apropiados incluyen agua, solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa, y soluciones de etanol, glucosa, sacarosa, dextrano, manosa, manitol, sorbitol, polietilen glicol (PEG), fosfato, acetato, gelatina, colágeno, Carbopol®, aceites vegetales, y similares. Se pueden incluir adicionalmente conservantes apropiados, estabilizadores, antioxidantes, antimicrobianos, y agentes reguladores, tales como, por ejemplo, BHA, BHT, ácido cítrico, ácido ascórbico, tetraciclina y similares.
- 15 Otros ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden ser usados en la composición de la invención incluyen, pero no están limitados a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero, tales como albúmina de suero humano, sustancias reguladoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrógeno fosfato disódico, hidrógeno fosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc,
- 20 sílica coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona de, sustancias con base de celulosa, polietilen glicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno y polioxipropileno, polietilen glicol y grasa de lana.

- En una realización, la composición de la invención puede comprender algunos excipientes, tales como, por ejemplo, surfactantes (por ejemplo hidroxipropilcelulosa); vehículos adecuados, tales como, por
- 25 ejemplo, solventes y medios de dispersión que contienen, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, glicol de propileno, y polietilen glicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales, tales como, por ejemplo, aceite de cacahuete o aceite de ajonjolí; agentes isotónicos, tales como, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio, agentes de revestimiento, tales como, por ejemplo, lecitina; agentes retardantes de absorción, tales como, por ejemplo, monoestearato de
- 30 aluminio y gelatina; conservantes, tales como, por ejemplo, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, clorobutanol, timerosal y similares; reguladores, tales como, por ejemplo, ácido bórico, bicarbonato de sodio y de potasio, borato de sodio y de potasio, carbonato de sodio y de potasio, acetato de sodio, bifosfato de sodio y similares; agentes de tonicidad, tales como, por ejemplo, dextrano
- 35 40, dextrano 70, dextrosa, glicerina, cloruro de potasio, propilen glicol, cloruro de sodio; antioxidantes y estabilizadores, tales como, por ejemplo, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, tiourea y similares; agentes humectantes no iónicos o agentes clarificantes, tales como, por ejemplo, polisorbato 80, polisorbato 20, poloxámero 282 y tiloxapol; agentes modificadores de viscosidad, tales como, por ejemplo, dextrano 40, dextrano 70, gelatina, glicerina, hidroxietilcelulosa, hidroximetilpropilcelulosa, lanolina, metilcelulosa, petrolato, polietilen glicol, alcohol de polivinilo,
- 40 polivinilporrolidona, carboximetilcelulosa; y similares.

En una realización, la composición puede comprender una sal del péptido farmacéuticamente aceptable.

- Ejemplos de la sal farmacéuticamente aceptable incluyen sales con bases inorgánicas, sales con bases orgánicas, sales con ácidos inorgánicos, sales con ácidos orgánicos, sales con aminoácidos básicos o ácidos y similares. Ejemplos de la sal con una base inorgánica incluyen sales de metal alcalino, tales
- 45 como una sal de sodio y una sal de potasio; una sal de un metal alcalinotérreo tal como una sal de calcio y una sal de magnesio; una sal de aluminio; y una sal de amonio. Ejemplos de la sal con una base orgánica incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, pocolina, 2,6-lutidina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, ciclohexilamina, diciclohexilamina y N,N'-dibenciletilenodiamina. Ejemplos de la sal con un ácido inorgánico incluyen sales con ácido clorhídrico, ácido bórico, ácido
- 50 nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Ejemplos de la sal con un ácido orgánico incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, y ácido p-toluenosulfónico. Ejemplos de la sal con un aminoácido básico incluyen sales con arginina, lisina y ornitina, Ejemplos de la sal con un aminoácido ácido incluyen sales con
- 55 ácido aspártico y ácido glutámico. La lista de las sales apropiadas es revelada en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., p. 1418, 1985, cuya revelación completa está incorporada aquí como referencia.

En una realización de la invención, dicho péptido comprende desde 6 a 20 aminoácidos y un motivo fosforilado GpYX₁X₂X₁S (SEQ ID NO: 33), donde cada X₁ es M y X₂ es F.

Otro objeto de la presente invención es un péptido como es descrito arriba o una composición farmacéutica como es descrita arriba para tratar cáncer o para uso en el tratamiento de cáncer.

- 5 Otro objeto de la invención es un método para tratar cáncer, que comprende la administración a un sujeto con la necesidad de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos uno de los péptidos de la invención.

De acuerdo con la invención, el sujeto puede ser cualquier mamífero, preferiblemente un humano.

- 10 “Dosis o cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a un nivel de dosificación suficiente para inducir un resultado biológico deseado. El resultado puede ser el alivio de los signos, síntomas, o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Preferiblemente, esta dosis o cantidad será suficiente para aliviar la condición cancerosa matando las células cancerosas, pero también para tener un efecto que resulte en la inhibición del crecimiento y/o metástasis del cáncer.

Cánceres que pueden ser tratados por los péptidos, composiciones y métodos de la invención incluyen, pero no están limitados a:

- 15 Cardíaco: sarcoma (angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma;

Pulmón: de pulmón de célula no pequeña, carcinoma broncogénico (célula escamosa, célula pequeña no diferenciada, célula grande no diferenciada, adenocarcinoma), carcinoma alveolar (bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, condromatosis, hamartoma, mesotelioma.

- 20 Gastrointestinal: esófago (carcinoma de célula escamosa, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma, linfoma), estómago (carcinoma, linfoma, leiomiomasarcoma), páncreas (adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinooma, tumores carcinoides, vipoma), intestino delgado (adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma), intestino grueso (adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma veloso, hamartoma, leiomioma), colon, colorrectal, rectal;

- 25 Tracto genitourinario: riñón (adenocarcinoma, tumor de Wilm [nefroblastoma], linfoma, leucemia), vejiga y uretra (carcinoma de célula escamosa, carcinoma de célula transicional, adenocarcinoma), próstata (adenocarcinoma, sarcoma), testis (seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de célula intersticial, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma);

- 30 Hígado: hematoma (carcinoma hepatocelular), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma;

- 35 Hueso: sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de célula reticular), mieloma múltiple, tumor cordoma maligno de células gigantes, osteocondroma (exostosis osteocartilaginoso), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide, y tumores de células gigantes;

- 40 Sistema nervioso: cráneo (osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteitis deformans), meninges (meningioma, meningosarcoma, gliomatosis), cerebro (astrocitoma, medulloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos), neurofibroma de la médula espinal, meningioma, glioma, sarcoma);

- 45 Ginecológico: útero (carcinoma endometrial), cérvix (carcinoma cervical, pre-tumor de displasia cervical), ovarios (carcinoma de los ovarios [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado], tumor celular de granuosa-tecal, tumor celular de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno), vulva (carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma), vagina (carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioide [rabdomiosarcoma embrional], tubos de Falopio [carcinoma]);

Hematológico: sangre (leucemia mieloide [agudo y crónico], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico), enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin [linfoma maligno];

Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares displásicos de nevi, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y

Glándulas adrenales: neuroblastoma.

- 5 Cánceres que pueden ser tratados por los péptidos, composiciones y métodos de la invención incluyen, pero no están limitados a: mama, próstata, colon, colorrectal, pulmón, de pulmón de célula no pequeña, cerebro, testicular, estómago, páncreas, piel, intestino delgado, intestino grueso, garganta, cabeza y cuello, oral, hueso, hígado, vejiga, riñón, tiroides y sangre.

Cánceres que pueden ser tratados por los péptidos, composiciones y métodos de la invención incluyen: mama, próstata, colon, ovarios, colorrectal, pulmón y de pulmón de célula no pequeña.

- 10 Cánceres que pueden ser tratados por los péptidos, composiciones y métodos de la invención incluyen: mama, colon (colorrectal), y pulmón (de pulmón de célula no pequeña).

Cánceres que pueden ser tratados por los péptidos, composiciones y métodos de la invención incluyen: linfoma y leucemia.

- 15 Cánceres que pueden ser tratados por los péptidos, composiciones y métodos de la invención incluyen cánceres relacionados con angiogénesis tales como carcinoma de mama, carcinoma de vejiga, carcinoma de colon, tumores de la cavidad oral, tumores avanzados, leucemia de células peludas, melanoma, de cabeza y cuello avanzado, célula metastásica renal, linfoma no Hodgkin, mama metastásico, adenocarcinoma de mama, melanoma avanzado, pancreático, gástrico, glioblastoma, pulmón, ovarios, de pulmón de célula no pequeña, próstata, de pulmón de célula pequeña, carcinoma de célula renal, varios tumores sólidos, mieloma múltiple, próstata metastásica, glioma maligno, cáncer renal, linfoma, enfermedad de metástasis refractaria, mieloma múltiple refractario, cáncer cervical, sarcoma de Kaposi, glioma anaplásico recurrente, y cáncer de colon metastásico.
- 20

También se pretende que estos péptidos, composiciones y métodos de la invención prevengan o disminuyan la metástasis celular del tumor.

- 25 Adicionalmente se revela un método para tratar o prevenir una enfermedad en la que la angiogénesis está implicada, que comprende administrar a un sujeto en necesidad de dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un péptido de la presente invención.

- 30 Enfermedades relacionadas con angiogénesis incluyen enfermedades neovasculares oculares (tales como, por ejemplo, retinopatía isquémica, retinopatía diabética, retinopatía de la premadurez, oclusiones de la vena retinal, degeneración macular relacionada con la edad, neovascularización de la córnea, glaucoma neovascular), aterosclerosis, artritis, psoriasis, obesidad y enfermedad de Alzheimer.

- 35 Adicionalmente se revela un método para tratar o prevenir trastornos hiperproliferativos tales como restenosis, inflamación, enfermedades autoinmunes y alergia/asma, que comprenden administrar a un sujeto con necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un péptido de la presente invención.

De acuerdo a la presente invención, los péptidos de la invención pueden ser administrados oralmente, tópicamente, o por medios parenterales, incluyendo inyección subcutánea, transdérmica o intramuscular, implantación de terminales de liberación prolongada, inyección intravenosa, administración intranasal, y similares.

- 40 En una realización de la invención, el péptido de la invención puede ser administrado intraocularmente. Como se usa aquí, "intraocularmente" significa por ruta de administración intraocular. En una realización, la ruta intraocular de administración es una administración dentro de la parte interior del ojo, preferiblemente dentro del segmento posterior del ojo, más preferiblemente dentro del vítreo. La ruta intraocular preferida es la inyección intravítrea. Como se usa aquí, "el interior del ojo" significa cualquier
- 45 área localizada dentro del globo ocular, incluyendo el segmento anterior y posterior del ojo, y que generalmente incluye, pero no está limitado a, cualquier tejido funcional (por ejemplo, para visión) o estructural encontrado dentro del globo ocular, o tejidos o capas celulares que cubren parcial o completamente el interior del globo ocular. Ejemplos específicos de áreas incluyen la cámara anterior, la cámara posterior, la cavidad vítrea, la coroides, la mácula, y la retina, y vasos sanguíneos y nervios
- 50 que vascularizan o inervan una región o sitio ocular posterior. De acuerdo con una realización preferida, el interior del ojo se refiere la segmento posterior del ojo, incluyendo la cámara posterior, la cavidad vítrea, la coroides, la mácula, y la retina, y vasos sanguíneos y nervios que vascularizan o inervan una región o sitio ocular posterior.

En una realización de la presente invención, el péptido de la invención puede ser administrado por administración ocular tópica, tales como, por ejemplo, la administración de gotas oculares o bañando el ojo en una solución oftálmica que comprende el péptido o la composición de la invención.

5 De acuerdo con la invención, las composiciones que comprenden los péptidos de la invención pueden ser soluciones acuosas, emulsiones, cremas, ungüentos, suspensiones, geles, suspensiones liposómicas, y similares.

10 De acuerdo con la invención, la composición comprende el péptido de la invención en una cantidad de aproximadamente 0.0001 a 500 mg del péptido por milímetro o gramo de la composición, preferiblemente desde aproximadamente 0.001 a 50 mg, más preferiblemente desde 0.01 a 5 mg y aún más preferiblemente desde 0.1 a 1 mg del péptido por mililitro o gramo de la composición.

De acuerdo con la invención, la composición comprende el péptido de la invención en una cantidad desde aproximadamente 0.01% a 90% por peso al volumen de la composición total, preferiblemente desde 0.1 a 10% por peso, más preferiblemente desde 1 a 5% por peso del volumen de la composición total.

15 En otra realización de la invención, la composición que comprende por lo menos uno de los péptidos de la invención puede adicionalmente comprender por lo menos un agente citotóxico, quimioterapéutico o anticáncer.

20 En otra realización de la invención, la composición que comprende por lo menos uno de los péptidos de la invención puede ser usada en combinación con por lo menos un agente citotóxico, quimioterapéutico o anticáncer.

Ejemplos de agentes anticáncer incluyen, pero no están limitados a, agentes alquilantes o agentes con una acción alquilante, tales como, por ejemplo, ciclofosfamida (CTX; por ejemplo CYTOXAN®), cLorambucil (CHL; por ejemplo LEUKERAN®), cisplatina (CisP; por ejemplo PLATINOL®), oxaliplatina (por ejemplo ELOXATIN™), busulfan (por ejemplo MYLERAN®), melfalan, carmustina (BCNU), estreptozotocina, trietilenmelamina (TEM), mitomicina C, y similares; anti-metabolitos, tales como, por ejemplo, metotrexato (MTX), etoposida (VP16; por ejemplo VEPESID®), 6-mercaptopurina (6MP), 6-tioguanina (6TG), citarabina (Ara-C), 5-fluorouracilo (5-FU), capecitabina (e.g. XELODA®), dacarbazina (DTIC), y similares; antibióticos, tales como, por ejemplo, actinomicina D, doxorubicina (DXR; por ejemplo ADRIAMYCIN®), daunorrubicina (daunomicina), bleomicina, mitramicina y similares; alcaloides, tales como, por ejemplo, alcaloides vinca tales como, por ejemplo, vincristina (VCR), vinblastina, y similares; y otros agentes antitumorales, tales como, por ejemplo, paclitaxel (por ejemplo TAXOL®) y derivados de paclitaxel, los agentes citoestáticos, glucocorticoides tales como dexametasona (DEX; por ejemplo DECADRON®) y corticoesteroides tales como, por ejemplo, prednisona, inhibidores de la enzima de nucleósidos tales como, por ejemplo, hidroxurea, enzimas que agotan los aminoácidos tales como, por ejemplo asparaginasa, leucovorina, ácido fólico, raltitrexed, y otros derivados de ácido fólico, y similares, diversos agentes antitumorales. Los siguientes agentes también pueden ser usados como agentes adicionales: amifostina (por ejemplo ETHYOL®), dactinomicina, mecloretamina (mostaza de nitrógeno), estreptozocina, ciclofosfamida, lomustina (CCNU), lipo doxorubicina (por ejemplo DOXIL®), gemcitabina (por ejemplo GEMZAR®), lipo daunorrubicina (por ejemplo DAUNOXOME®), procarbazona, mitomicina, docetaxel (por ejemplo TAXOTERE®), aldesleucina, carboplatina, cladribina, camptotecina, camptotecina de 10-hidroxi 7-etil-(SN38), floxuridina, fludarabina, ifosfamida, idarubicina, mesna, interferón alfa, interferón beta, mitoxantrona, topotecan, leuprolida, megestrol, melfalan, mercaptopurina, plicamicina, mitotano, pegaspargaso, pentostatina, pipobroman, plicamicina, tamoxifen, teniposida, testolactona, tioguanina, tiotepa, mostaza de uracilo, vinorelbina, o clorambucil.

El uso de agentes citotóxicos, quimioterapéuticos u otros agentes anticáncer descritos arriba en los regímenes quimioterapéuticos es generalmente bien caracterizado en las artes de terapia para cáncer, y su uso aquí cae bajo las mismas consideraciones para monitorear la tolerancia y efectividad y para controlar rutas de administración y dosificaciones, con algunos ajustes. Dosificaciones típicas de un agente citotóxico efectivo pueden estar en los rangos recomendados por el fabricante, y donde sea indicado por respuestas in vitro o respuestas en modelos animales, puede ser reducido hasta aproximadamente un orden de magnitud de concentración o cantidad. Por lo tanto, la dosificación real va a depender del juicio del médico, la condición del paciente, y la efectividad del método terapéutico con base en la sensibilidad in vitro de las células malignas cultivadas primariamente o muestras de tejido histocultivado, o las respuestas observadas en los modelos animales apropiados.

Esta invención será mejor comprendida con los Detalles Experimentales que siguen a continuación. Sin embargo, una persona experimentada en el arte apreciará fácilmente que los métodos específicos y resultados discutidos son simplemente ilustrativos de la invención como se describe más

detalladamente en las reivindicaciones que siguen más adelante, y no han de ser considerados en ninguna forma como limitados a estos.

Breve descripción de las figuras

5 Figura 1: Imágenes representativas del análisis de angiogénesis in vitro (las imágenes fueron tomadas a las 18h post-incubación).

Figura 2: Influencia de los péptidos fosforilados y no fosforilados de tirosina sobre el reclutamiento de la subunidad reguladora (p85) de la enzima PI-3K por IRS-1.

Figura 3: (A) Influencia de GS-0 y GS-1 sobre la activación de mTor. (B) Influencia de GS-0 y GS-2 sobre la activación de mTor.

10 Figura 4: Curva de la media del Volumen del Tumor de ratones con tumores NCI-H460 tratados con el vehículo, GS-0 a 8mg/kg o GS-1 a 8mg/kg.

Figura 5: Curva de la media del Volumen del Tumor de ratones con tumores NCI-H460 tratados con el vehículo, GS-0 a 8mg/kg o GS-1 a 8mg/kg.

Ejemplos

15 Ejemplo 1

Materiales y métodos

Materiales

20 El medio de cultivo EGM-2MV era de Lonza (Verviers, Bélgica). Se adquirieron PBS libres de Calcio y Magnesio, tripsina-EDTA (Versene), de Eurobio (Les Ulis, Francia). Se adquirió Matrigel de Becton Dickinson (Le Pont de Claix, Francia). Se obtuvo medio de cultivo bacteriano LB, Thermoscript y las enzimas Platinum HIFI de alta fidelidad, de Invitrogen (Cergy Pontoise, Francia). Se obtuvo mini kit de Rneasy, Qiaquick y Qiaprep miniprep, de Qiagen (Courtaboeuf, Francia), de Ciencias Aplicadas de Roche. Los péptidos fueron sintetizados químicamente por GeneCust con acetilación terminal N y amidación terminal C como modificaciones químicas. Todos los péptidos fueron sometidos a un paso de purificación HPLC y suministrados como polvo liofilizado con por lo menos 95% de pureza.

Métodos

Análisis de Angiogénesis

30 La angiogénesis de células endoteliales microvasculares humanas (HMEC) fue inducida in vitro usando un análisis de Matrigel descrito por Al-Mahmood et al (2009, JPET, 2009; 58:933). Este método está basado en la diferenciación de células endoteliales para formar estructuras capilares en una Matriz Matrigel. La Matrigel es preparada del tumor de ratón Engelbreth-Holm-Swarm (EHS), el cual representa una mezcla compleja de proteínas de membrana basal incluyendo colágeno tipo IV, entactina, sulfato de proteoglicano y otros factores de crecimiento.

35 En resumen, se transfirieron 250 µl de Matrigel a cada pozo de una placa de cultivo de 24 pozos y fueron incubados a 37° C por 30 min para permitir que la solución matriz se solidificara. Las HMEC cultivadas en medio de cultivo completo EGM-2MV fueron extraídas con tripsina, suspendidas en el mismo medio de cultivo y se agregaron 500 µl que contenían 70000 células sobre la Matrigel solidificada en cada pozo y en la presencia o ausencia de péptido. Las células fueron mantenidas en aire de atmosfera humidificada que contenía 5% CO₂ a 37°C por 18-24 horas. Se observó formación de tubos endoteliales y se fotografió bajo un microscopio de luz invertido.

Análisis de Proliferación

45 Cinco mil HMEC (5000 células/ml de medio de cultivo) fueron sembradas en una microplaca para cultivo celular de 96 pozos (100 µl/pozo) e incubadas con el péptido indicado a las concentraciones finales indicadas por 42 horas a 37°C, la proliferación celular fue medida usando el método de azul de tiazolilo bromuro de tetrazolio (MTT). Brevemente, se disolvió MTT (Sigma) en PBS a 5mg/ml, las solución fue filtrada (0.22 µm) y 10 µl fueron agregados a cada pozo de las microplacas de 96 pozos. Después de 3 horas de incubación a 37°C, una atmosfera humidificada de 5% CO₂, las microplacas

fueron centrifugadas a 220 x g por 10 min, el sobrenadante fue descartado, y los cristales disueltos por la adición de 100 µl de DMSO a cada pozo. La densidad óptica (OD) a 570nm fue entonces medida usando el lector de microplacas µQuant junto con el software KC4 (Bio-Tek, Colmar Francia). La OD fue corregida sustrayendo los valores de OD de pozos en blanco (los valores de OD obtenidos de los pozos con HUVEC no tratados representando la respuesta proliferativa máxima, es decir 100%).

Cuantificación de proteínas

Las HMEC privadas de suero fueron incubadas con diferentes concentraciones de péptidos por 24 h a 37 °C bajo 5% CO₂ por 6 h. Después de 3 lavados con PBS helado, las células fueron suspendidas con el regulador de extracción de proteína (PEB) (Tris-HCl 20mM pH 7.5, NaCl 150 mM, mM, 1 mM EGTA, 1% Triton, pirofosfato de sodio 25 mM, β-glicerofosfato 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM, 1 mg/ml de leupeptina, PMSF 1 µM). El contenido de proteína fue medido por Bradford.

Tratamiento celular e inmunoprecipitación

Las EC humanas sembradas en EGM-2MV (80% confluencia) fueron incubadas con los péptidos de la invención o el vehículo por el tiempo indicado, lavados 3 veces en PBS frío y lisadas directamente en 2 ml de regulador de lisis helado (Tris 10 mM pH 7.5, NaCl 150 mM, PMSF1 mM, 0.5 µg/ml de leupeptina, 1 µg/ml de pepstatina A, y 1µg/ml de aprotinina) por incubación por 30 min a 4 °C. El lisado celular fue centrifugado a 104 g por 10 min, los materiales no solubles fueron descartados, y los contenidos de las proteínas medidos por análisis Bradford del sobrenadante fueron ajustados. El lisado celular (1 ml) fue preacclarado con 25 µl de perlas de agarosa de proteína G-plus (Santa Cruz) por 30 min, y las proteínas fueron entonces inmunoprecipitadas agregando 2 µg del anticuerpo indicado e incubadas por 1 h. El inmunocomplejo fue bajado con perlas de agarosa de proteína G-plus y las perlas fueron lavadas tres veces con el regulador de lisis. Los inmunoprecipitados fueron separados por electroforesis en gel NuPAGE® 4-12% Bis-Tris bajo condiciones reductoras, transferidos a una membrana PVDF (Novex System, Invitrogen), y la membrana fue bloqueada con 5% (p/v) de leche desnatada en TBS que contenía 0.1% v/v Tween-20 durante 1 h. La membrana fue incubada con el anticuerpo primario indicado por 2 h, lavado tres veces, e incubado con el anticuerpo secundario apropiado conjugado con HRP y revelado por quimioluminiscencia mejorada, ECL plus (GE Healthcare, Velizy, Francia).

Resultados

Los siguientes péptidos fueron probados:

GpYMFMS GS-1 (SEQ ID NO: 37)

EpYMNMD GS-2 (SEQ ID NO: 38)

DpYMTMQ GS-3 (SEQ ID NO: 39)

NYICMG GS-0 (péptido no fosforilado de tirosina usado como control) (SEQ ID NO:40).

Influencia de los péptidos que tienen un motivo fosforilado pYX₁X₂X₁ de acuerdo a la invención sobre angiogénesis in vitro

Los péptidos fosforilados y no fosforilados de tirosina diseñados fueron probados en cuanto a su influencia sobre la angiogénesis in vitro. Los resultados del análisis de angiogénesis in vitro fueron presentados en la Figura 1, usando HMEC y 500 µg/ml de concentración final de cada péptido. Estos resultados muestran que el péptido no fosforilado de tirosina GS-0 usado como control no tiene y/o tiene una actividad inhibitoria despreciable de angiogénesis in vitro insignificante (Figura 1). Los resultados presentados en la misma figura también mostraron que los péptidos pequeños fosforilados de tirosina GS-1, GS-2, y GS-3 tienen actividades inhibitoras de angiogénesis in vitro.

Influencia de los péptidos sobre la asociación de p85 a IRS-1

Puesto que es ampliamente admitido que la fosforilación de la tirosina de IRS-1 lleva a su asociación con la subunidad reguladora (p85) de la enzima PI-3K, y este evento conlleva importantes aumentos en la actividad enzimática del ultimo, hemos investigado la influencia de los péptidos fosforilados y no fosforilados de tirosina sobre el reclutamiento de la subunidad reguladora (p85) de la enzima PI-3K por IRS-1. Para eso, se incubaron células endoteliales microvasculares humanas (HMEC) con los péptidos fosforilados y los no fosforilados de tirosina (la concentración final del péptido 500 µg/ml) seguido por lisis celular e inmunoprecipitación de la proteína IRS-1. Los inmunoprecipitados fueron después

resueltos en SDS-PAGE, las proteínas fueron transferidas a membranas, y las membranas fueron inmunosembradas con un anticuerpo monoclonal anti-p85 PI3K.

5 Los resultados presentados en la figura 2 muestran que el péptido no fosforilado de tirosina GS-0 usado como control no tiene y/o tiene influencia insignificante sobre el reclutamiento de la subunidad regulatoria (p85) de la enzima PI3K por IRS-1. Los resultados presentados en la misma figura también muestran que el péptido fosforilado de tirosina GS-2 tiene efectos inhibitorios moderados sobre el reclutamiento de la subunidad regulatoria (p85) de la enzima PI3K por IRS-1. Y el péptido fosforilado de tirosina GS-1 tiene efectos inhibitorios muy fuertes sobre el reclutamiento de la subunidad regulatoria (p85) de la enzima PI3K por IRS-1.

10 Influencia de los péptidos sobre mTOR en HMEC

15 El estado de mTOR en el HMEC después de la incubación con los péptidos GS-0 y GS-1 fue investigado. Los resultados mostraron que HMEC (Vehículo) posee un nivel importante de mTOR (Figura 3A y B, anticuerpo anti-mTor, Ozima, 2971(Ser2448)). Las líneas celulares de HMEC incubadas con el péptido GS-0 tienen cantidades equivalentes de mTOR como célula incubada con vehículo. En contraste, la línea celular de HMEC incubada con GS-1 o GS-2 tiene mucho menos cantidades de mTOR relativo a HMEC incubado con vehículo o con GS-0, indicando que el péptido GS-1 inhibe la activación de mTOR.

Ejemplo 2

Métodos

20 Cultivo celular:

La línea celular H460 tiene una citología compatible con el cáncer de Pulmón de Célula No Pequeña humano (NSCL). Las células fueron cultivadas en medio de MEM que contiene 10% FCS a 37 °C, atmósfera humidificada 5% CO₂. La ausencia de micoplasmas fue confirmada usando el kit de Detección de Micoplasma por PCR (Takara).

25 Xenoinjertos tumorales en ratones inmunodeprimidos y tratamientos:

30 Todos los experimentos fueron revisados por el comité institucional de cuidado y uso animal Genopole y fueron realizados de acuerdo con las reglas institucionales para el cuidado animal. Ratones hembra BALB/c nu/nu (n=30) fueron usados a las 5-6 semanas de edad. Los animales fueron alojados en cabinas de flujo de aire laminar bajo condiciones libres de patógenos con un horario de 12 h de luz/12 h de oscuridad, y alimentados con comida estándar esterilizada en autoclave y agua ad libitum. La línea celular NSCL humana NCI-H460 fue obtenida de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC) y las células fueron cultivadas en medio RPMI 1640 suplementado con 1 µM de piruvato de sodio. Las células tumorales (10⁷ células en 200 µl de HBSS) fueron inyectadas subcutáneamente en los costados derechos de los ratones. Después del injerto, el volumen del tumor fue medido con calibradores de Vernier, y calculado como es descrito en Balsari A et al. (Balsari A et al. (2004) Eur J Cancer 40: 1275-1281). Cuando el tumor tenía un volumen de aproximadamente 150 mm³, los animales fueron aleatorizados y divididos en cinco grupos de cinco animales. Ratones control (grupo 1) fueron inyectados intraperitonealmente con el vehículo (10% DMSO en solución salina reguladora) todos los días. Se disolvió GS-0 en el vehículo y se inyectó intraperitonealmente (grupo 2) todos los días (12 inyecciones). Se disolvió GS-1 en el vehículo y se inyectó intraperitonealmente (grupo 3) todos los días (12 inyecciones). El volumen del tumor y el peso corporal fueron medidos día de por medio durante el periodo de tratamiento (12 días).

Preparación de los péptidos y diluciones

45 GS-1 como también el péptido control GS-0 fueron solubilizados en DMSO y las soluciones resultantes fueron diluidas 10 veces con fosfato de solución salina reguladora (PBS) para obtener una concentración de 1 mg de péptido/ml de 10% DMSO en PBS. En esta concentración, todos los péptidos eran solubles en 10% DMSO.

Resultados

Peso corporal medio de los ratones con NCI-H40 y problemas de toxicidad

50 Los resultados de la monitorización del peso corporal y la toxicidad son mostrados en la Tabla 1. El vehículo no tuvo impacto: el comportamiento de los ratones y el aumento de peso corporal fueron

normales y ningún animal murió prematuramente. No se observó toxicidad ni pérdida de peso corporal durante el curso del tratamiento con las sustancias de prueba GS-0 y GS-1 a las dosis de 8mg/kg.

Tabla 1: Media de peso corporal de los ratones con tumores NCI-H40 tratados con el vehículo, GS-0 a 8mg/kg y GS-1 a 8mg/kg.

5

	D1	D3	D5	D7	D9	D11	D13
Vehículo	22.89±0.30	24.15±0.92	24.14±0.74	24.30±1.12	24.54±1.11	23.89±0.70	24.77±1.07
GS-0	20.91±5.09	21.37±5.14	21.65±5.60	21.81±5.47	22.52±5.17	22.76±5.37	22.36±5.84
GS-1	23.58±2.06	23.27±1.79	20.69±2.87	23.29±1.78	23.72±1.42	23.81±1.77	23.48±1.57

Crecimiento del tumor in vivo

Los resultados de la media del volumen tumoral son mostrados en la Figura 4 y Tabla 2. La evolución de la media del volumen tumoral con tiempo para ratones tratados con el vehículo, GS-0 y GS-1 mostró que no hay diferencias estadísticas significativas entre los tres grupos de animales a través del periodo de tratamiento (12 días). Al final del tratamiento, la media del volumen tumoral de los grupos tratados con el del vehículo y GS-0 son 1165.64 + 769.22 (n=5); y 1114.83 + 534.50 (n=5) mm³ respectivamente los cuales no son estadísticamente diferentes de cada uno (p>0.05), indicando que el péptido GS-0 no tiene influencia significativa (p>0.05) sobre el crecimiento in vivo del tumor NCI-H460.

La evolución de la media del volumen tumoral con tiempo muestra también que los ratones tratados con GS-1 tienen una media de volumen tumoral estadísticamente diferente de los ratones tratados con el vehículo, y GS-0 a través del periodo de tratamiento (12 días) (Figura 4 y Tabla 2). Una reducción masiva de la media del volumen tumoral fue observada en animales del grupo tratados con GS-1 (234.98 + 69.22 mm³; n = 5) comparado con el grupo 1, los animales tratados con el vehículo (1165.64 + 769.22 mm³; n=5). La diferencia entre el grupo tratado con el vehículo y el grupo tratado con GS-1 alcanzó una significancia estadística (p=0.0004). La diferencia entre el grupo tratado con GS-1 (234.98 + 69.22 mm³; n = 5) y los grupos tratados con GS-0 (1114.83 + 534.50 mm³; n = 5) también es estadísticamente diferente (p>0.05), indicando que el péptido GS-1 tiene una influencia altamente significativa y potente (p=0.0004) sobre el crecimiento in vivo del tumor NCI-H460. De hecho, la apreciación de la potente actividad antitumoral in vivo del péptido GS-1 indica que la inyección diaria de GS-1 a 8mg/kg por 12 días sucesivos conlleva a una inhibición de aproximadamente 80% del crecimiento del tumor in vivo.

Tabla 2: Media del volumen tumoral de ratones con tumores NCI-H460 tratados con el vehículo, GS-0 a 8mg/kg y GS-1 a 8mg/kg. Los resultados fueron expresados como media de peso corporal (g) + desviación estándar.

30

	D1	D3	D5	D7	D9	D11	D13
Vehículo	83,92±22,28	133,99±53,69	211,47±144,12	313,92±213,31	517,51±305,71	747,16±348,36	1165,64±769,22
GS-0	123,48±44,68	232,87±54,82	335,13±184,14	401,53±236,93	552,95±276,69	750,63±435,84	1114,83±534,50
GS-1	113,99±36,55	133,11±54,63	123,77±41,65	140,52±42,78	230,54±32,91	333,54±141,61	234,98±69,22

En conclusión, el péptido GS-1 muestra una actividad antitumoral estadísticamente significativa y potente contra NCI-H460 in vivo.

Ejemplo 3

Métodos

5 Cultivo celular:

La línea celular H460 tiene una citología compatible con el cáncer de Pulmón de Célula No Pequeña humano (NSCL). Las células fueron cultivadas en medio de MEM que contiene 10% FCS a 37 °C, atmósfera humidificada 5% CO₂. La ausencia de micoplasmas fue confirmada usando el kit de Detección de Micoplasma por PCR (Takara).

10 Xenoinjertos tumorales en ratones inmunodeprimidos y tratamientos:

15 Todos los experimentos fueron revisados por el comité institucional de cuidado y uso animal Genopole y fueron realizados de acuerdo con las reglas institucionales para el cuidado animal. Ratones hembra BALB/c nu/un (n=30) fueron usados a las 5-6 semanas de edad. Los animales fueron alojados en cabinas de flujo de aire laminar bajo condiciones libres de patógenos con un horario de 12 h de luz/12 h de oscuridad, y alimentados con comida estándar esterilizada en autoclave y agua ad libitum. La línea celular NSCL humana NCI-H460 fue obtenida de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC) y las células fueron cultivadas en medio RPMI 1640 suplementado con 1μM de piruvato de sodio. Las células tumorales (10⁷ células en 200 μl de HBSS) fueron inyectadas subcutáneamente en los costados derechos de los ratones. Después del injerto, el volumen del tumor fue medido con calibradores de Vernier, y calculado como se describe en Balsari A et al. (Balsari A et al. (2004) Eur J Cancer 40: 1275-1281). Cuando el tumor tenía un volumen de aproximadamente 150 mm³, los animales fueron aleatorizados y divididos en cinco grupos de cinco animales. Ratones control (grupo 1) fueron inyectados intraperitonealmente con el vehículo (10% DMSO en solución salina reguladora) todos los días. Se disolvió GS-0 en el vehículo y se inyectó intraperitonealmente (grupo 2) todos los días (12 inyecciones). Se disolvió GS-2 en el vehículo y se inyectó intraperitonealmente (grupo 3) todos los días (12 inyecciones). El volumen del tumor y el peso corporal fueron medidos día de por medio durante el periodo de tratamiento (12 días).

Preparación de los péptidos y diluciones

30 GS-2 como también el péptido control GS-0 fueron solubilizados en DMSO y las soluciones resultantes fueron diluidas 10 veces con fosfato de solución salina reguladora (PBS) para obtener una concentración de 1 mg de péptido/ml de 10% DMSO en PBS. En esta concentración, todos los péptidos eran solubles en 10% DMSO.

Resultados

Media del peso corporal de los ratones con NCI-H40 y problemas de toxicidad

35 Los resultados de la monitorización del peso corporal y la toxicidad son mostrados en la Tabla 3. El vehículo no tuvo impacto: el comportamiento de los ratones y el aumento de peso corporal fueron normales y ningún animal murió prematuramente. No se observó toxicidad ni pérdida de peso corporal durante el curso del tratamiento con las sustancias de prueba GS-0 y GS-2 a las dosis de 8mg/kg.

40 Tabla 3: Media de peso corporal de los ratones con tumores NCI-H40 tratados con el vehículo, GS-0 a 8mg/kg y GS- 2 a 8mg/kg.

	D1	D3	D5	D7	D9	D11	D13
Vehículo	22.89±0.30	24.15±0.92	24.14±0.74	24.30±1.12	24.54±1.11	23.89±0.70	24.77±1.07
GS-0	20.91±5.09	21.37±5.14	21.65±5.60	21.81±5.47	22.52±5.17	22.76±5.37	22.36±5.84
GS-2	22.59±2.33	22.32±1.52	22.78±1.02	23.10±1.12	23.00±1.14	23.51±0.94	23.05±0.80

Crecimiento del tumor in vivo

- Los resultados de la media del volumen tumoral son mostrados en la Figura 5 y Tabla 4. La evolución de la media del volumen tumoral con tiempo para ratones tratados con el vehículo, GS-0 y GS-2 mostró que no hay diferencias estadísticas significativas entre los tres grupos de animales a través del periodo de tratamiento (12 días). Al final del tratamiento, la media del volumen tumoral de los grupos tratados con el del vehículo y GS-0 son 1165.64 ± 769.22 ($n=5$); y 1114.83 ± 534.50 ($n=5$) mm^3 respectivamente los cuales no son estadísticamente diferentes de cada uno ($p>0.05$), indicando que el péptido GS-0 no tiene influencia significativa ($p>0.05$) sobre el crecimiento in vivo del tumor NCI-H460.
- La evolución de la media del volumen tumoral con tiempo muestra también que los ratones tratados con GS-2 tienen una media de volumen tumoral estadísticamente diferente de los ratones tratados con el vehículo, y GS-0 a través del periodo de tratamiento (12 días) (Figura 4 y Tabla 2). Una reducción masiva de la media del volumen tumoral fue observada en animales del grupo tratados con GS-2 ($297.28 \pm 142.67 \text{ mm}^3$; $n = 5$) comparado con el grupo 1, los animales tratados con el vehículo ($1165.64 \pm 769.22 \text{ mm}^3$; $n=5$). La diferencia entre el grupo tratado con el vehículo y el grupo tratado con GS-1 alcanzó una significancia estadística ($p=0.0065$). La diferencia entre el grupo tratado con GS-2 ($297.28 \pm 142.67 \text{ mm}^3$; $n = 5$) y los grupos tratados con GS-0 ($1114.83 \pm 534.50 \text{ mm}^3$; $n = 5$) también es estadísticamente diferente ($p>0.05$), indicando que el péptido GS-2 tiene una influencia altamente significativa y potente ($p=0.0065$) sobre el crecimiento in vivo del tumor NCI-H460. De hecho, la apreciación de la potente actividad antitumoral in vivo del péptido GS-1 indica que la inyección diaria de GS-2 a 8mg/kg por 12 días sucesivos conlleva a una inhibición de aproximadamente 80% del crecimiento del tumor in vivo.

- Tabla 4: Media del volumen tumoral de ratones con tumores NCI-H460 tratados con el vehículo, GS-0 a 8mg/kg y GS-2 a 8mg/kg. Los resultados fueron expresados como media de peso corporal (g) + desviación estándar.

	D1	D3	D5	D7	D9	D11	D13
Vehículo	$83,92 \pm 22,28$	$133,99 \pm 5,36$	$211,47 \pm 14,42$	$313,92 \pm 21,31$	$517,51 \pm 30,57$	$747,16 \pm 34,83$	$1165,64 \pm 76,92$
GS-0	$123,48 \pm 4,68$	$232,87 \pm 5,48$	$335,13 \pm 18,41$	$401,53 \pm 23,69$	$552,95 \pm 27,66$	$750,63 \pm 43,58$	$1114,83 \pm 53,45$
GS-2	$123,81 \pm 3,03$	$129,20 \pm 3,81$	$163,14 \pm 26,43$	$173,53 \pm 90,54$	$254,50 \pm 10,90$	$296,74 \pm 14,07$	$297,28 \pm 142,67$

- En conclusión, el péptido GS-2 muestra una actividad antitumoral estadísticamente significativa y potente contra NCI-H460 in vivo.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> GENE SIGNAL INTERNATIONAL SA Al-Mahmood, Salman
- <120> Péptidos para tratar cáncer
- 5 <130> 116/PCT <160> 64
- <170> BiSSAP 1.0
- <210> 1
- <211> 4
- <212> PRT
- 10 <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <221> FUENTE
- <222> 1..4
- <223> /tipo_mol="proteína"
- 15 /nota="motivo YX1X2X1 "
- /organismo="Secuencia Artificial"
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> 1..1
- 20 <223> FOSFORILIZACIÓN
- <220>
- <221> SITIO
- <222> 2..2
- <223> X es M o Nle
- 25 <220>
- <221> SITIO
- <222> 3..3
- <223> X es cualquier aminoácido
- <220>
- 30 <221> SITIO
- <222> 4..4

<223> X es M o Nle

<400> 1

<210> 2

<211> 11

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..11

10 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

15 <222> 4..4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 2

Asp Asp Gly Tyr Met Pro Met Ser Pro Gly Val
1 5 10

<210> 3

20 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

25 <222> 1..11

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

30 <221> MOD_RES

<222> 4..4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 3

Asn	Gly	Asp	Tyr	Met	Pro	Met	Ser	Pro	Gly	Val
1				5					10	

5 <210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial1

<220>

10 <221> FUENTE

<222> 1..11

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial1"

15 <220>

<221> MOD_RES

<222> 4..4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 4

Pro	Asn	Gly	Tyr	Met	Met	Met	Ser	Pro	Ser	Gly
1				5					10	

20

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..11

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 4..4

5 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 5

Thr	Gly	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Ser	Pro	Val	Gly
1				5					10	

<210> 6

<211> 11

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..11

15 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

20 <222> 4..4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 6

Ser	Glu	Glu	Tyr	Met	Asn	Met	Asp	Leu	Gly	Pro
1				5					10	

<210> 7

25 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

30 <222> 1..16

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

5 <221> MOD_RES

<222> 8..8

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 7

Lys Lys His Thr Asp Asp Gly Tyr Met Pro Met Ser Pro Gly Val Ala
1 5 10 15

10 <210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <221> FUENTE

<222> 1..16

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

20 <220>

<221> MOD_RES

<222> 8..8

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 8

Arg Lys Gly Asn Gly Asp Gly Tyr Met Pro Met Ser Pro Lys Ser Val
1 5 10 15

25 <210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

30 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..17

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

5 /organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 9..9

<223> FOSFORILIZACIÓN

10 <400> 9

Lys Lys Arg Val Asp Pro Asn Gly Tyr Met Met Met Ser Pro Ser Gly
1 5 10 15
Ser

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..18

<223> /tipo_mol="proteína"

20 /nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 10..10

25 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 10

Lys Lys Lys Leu Pro Ala Thr Gly Asp Tyr Met Asn Met Ser Pro Val
1 5 10 15
Gly Asp

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

5 <222> 1..16

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

10 <221> MOD_RES

<222> 7..7

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 11

Lys Lys Gly Ser Glu Glu Tyr Met Asn Met Asp Leu Gly Pro Gly Arg
1 5 10 15

15 <210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <221> FUENTE

<222> 1..13

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

25 <220>

<221> MOD_RES

<222> 7..7

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 12

Lys Lys Ser Arg Gly Asp Tyr Met Thr Met Gln Ile Gly
1 5 10

30

<210> 13

<211> 13

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

5 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..13

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

10 /organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 7..7

<223> FOSFORILIZACIÓN

15 <400> 13

Lys Lys Ser Arg Gly Asn Tyr Met Thr Met Gln Ile Gly
1 5 10

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

20 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

25 /nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

30 <223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

<222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

5 <221> SITIO

<222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 14

Gly Tyr Xaa Pro Xaa Ser
1 5

10 <210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

20 <220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

25 <221> SITIO

<222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

30 <222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 15

Gly Tyr Xaa Phe Xaa Ser
1 5

<210> 16

5 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

15 <221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

20 <222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

<222> 5..5

25 <223> X es M o Nle

<400> 16

Asp Tyr Xaa Pro Xaa Ser
1 5

<210> 17

<211> 6

30 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

5 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

10 <222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

<222> 3..3

15 <223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

<222> 5..5

<223> X es M o Nle

20 <400> 17

Gly Tyr Xaa Met Xaa Ser

1 5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

30 /nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

5 <223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

<222> 3..3

<223> X es M o Nle

10 <220>

<221> SITIO

<222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 18

Asp Tyr Xaa Asn Xaa Ser

15 **1 5**

<210> 19

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

25 /organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

30 <220>

<221> SITIO

<222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

5 <221> SITIO

<222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 19

Glu Tyr Xaa Asn Xaa Asp
1 5

10 <210> 20

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

20 <220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

25 <221> SITIO

<222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

30 <222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 20

Asp Tyr Xaa Thr Xaa Gln
1 5

<210> 21

5 <211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..30

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

15 <221> MOD_RES

<222> 12..12

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

20 <222> 13..13

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

<222> 15..15

25 <223> X es M o Nle

<400> 21

Pro Asp Ser Ser Thr Leu His Thr Asp Asp Gly Tyr Xaa Pro Xaa Ser
1 5 10 15
Pro Gly Val Ala Pro Val Pro Ser Gly Arg Lys Gly Ser Gly
20 25 30

<210> 22

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

5 <222> 1..30

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

10 <221> MOD_RES

<222> 12..12

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

15 <222> 13..13

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

<222> 15..15

20 <223> X es M o Nle

<400> 22

Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Leu	His	Thr	Asp	Asp	Gly	Tyr	Xaa	Phe	Xaa	Ser
1				5				10					15		
Pro	Gly	Val	Ala	Pro	Val	Pro	Ser	Gly	Arg	Lys	Gly	Ser	Gly		
		20						25					30		

<210> 23

<211> 30

25 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..30

30 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

5 <222> 12..12

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

<222> 13..13

10 <223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

<222> 15..15

<223> X es M o Nle

15 <400> 23

Pro	Val	Pro	Ser	Gly	Arg	Lys	Gly	Ser	Gly	Asp	Tyr	Xaa	Pro	Xaa	Ser
1				5					10					15	
Pro	Lys	Ser	Val	Ser	Ala	Pro	Gln	Gln	Ile	Ile	Asn	Pro	Ile		
			20					25					30		

<210> 24

<211> 30

<212> PRT

20 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..30

<223> /tipo_mol="proteína"

25 /nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 12..12

30 <223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

<222> 13..13

<223> X es M o Nle

5 <220>

<221> SITIO

<222> 15..15

<223> X es M o Nle

<400> 24

	Arg	Arg	His	Pro	Gln	Arg	Val	Asp	Pro	Asn	Gly	Tyr	Xaa	Met	Xaa	Ser
	1				5					10					15	
10	Pro	Ser	Gly	Gly	Cys	Ser	Pro	Asp	Ile	Gly	Gly	Gly	Pro	Ser		
			20						25					30		

<210> 25

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..30

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

20 /organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 12..12

<223> FOSFORILIZACIÓN

25 <220>

<221> SITIO

<222> 13..13

<223> X es M o Nle

<220>

30 <221> SITIO

<222> 15..15

<223> X es M o Nle

<400> 25

Ser	Gly	Gly	Lys	Leu	Leu	Pro	Cys	Thr	Gly	Asp	Tyr	Xaa	Asn	Xaa	Ser
1				5					10					15	
Pro	Val	Gly	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Pro	Ser	Asp	Cys	Tyr		
			20					25					30		

5 <210> 26

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <221> FUENTE

<222> 1..30

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

15 <220>

<221> MOD_RES

<222> 11..11

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

20 <221> SITIO

<222> 12..12

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

25 <222> 14..14

<223> X es M o Nle

<400> 26

Pro	Arg	Glu	Glu	Glu	Thr	Gly	Thr	Glu	Glu	Tyr	Xaa	Lys	Xaa	Asp	Leu
1				5					10					15	
Gly	Pro	Gly	Arg	Arg	Ala	Ala	Trp	Gln	Glu	Ser	Thr	Gly	Val		
			20					25					30		

<210> 27
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <221> FUENTE
 <222> 1..30
 <223> /tipo_mol="proteína"
 /nota="péptido"

10 /organismo="Secuencia Artificial"
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> 11..11
 <223> FOSFORILIZACIÓN

15 <220>
 <221> SITIO
 <222> 12..12
 <223> X es M o Nle
 <220>

20 <221> SITIO
 <222> 14..14
 <223> X es M o Nle
 <400> 27

Pro	Arg	Glu	Glu	Glu	Thr	Gly	Thr	Glu	Glu	Tyr	Xaa	Asn	Xaa	Asp	Leu
1				5					10					15	
Gly	Pro	Gly	Arg	Arg	Ala	Ala	Trp	Gln	Glu	Ser	Thr	Gly	Val		
			20					25					30		

25 <210> 28
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>

30 <221> FUENTE

<222> 1..30

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

5 <220>

<221> MOD_RES

<222> 9..9

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

10 <221> SITIO

<222> 10..10

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

15 <222> 12..12

<223> X es M o Nle

<400> 28

Ala	Val	Pro	Ser	Ser	Arg	Gly	Asp	Tyr	Xaa	Thr	Xaa	Gln	Met	Ser	Cys
1				5					10					15	
Pro	Arg	Gln	Ser	Tyr	Val	Asp	Thr	Ser	Pro	Ala	Ala	Pro	Val		
			20					25					30		

<210> 29

20 <211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

25 <222> 1..11

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

30 <221> MOD_RES

<222> 6..6

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 29

Glu Glu Glu Tyr Met Pro Met Glu Asp Leu Tyr
1 5 10

5 <210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <221> FUENTE

<222> 1..11

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

15 <220>

<221> MOD_RES

<222> 4..4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 30

Asp Gly Gly Tyr Met Asp Met Ser Lys Asp Glu
1 5 10

20

<210> 31

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

25 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..16

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 10..10

5 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 31

Lys	Lys	Lys	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Tyr	Met	Pro	Met	Glu	Asp	Leu
1				5					10					15	

<210> 32

<211> 13

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..13

15 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

20 <222> 7..7

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> MOD_RES

<222> 8..8

25 <223> Nle

<400> 32

Lys	Lys	Ser	Arg	Gly	Asp	Tyr	Xaa	Thr	Met	Gln	Ile	Gly
1				5					10			

<210> 33

<211> 6

30 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<221> FUENTE

<222> 1..6

5 <223> /tipo_mol="proteína"

```
/nota="péptido"
```

/organismo="Secuencia Artificial"

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

10 <222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

$\langle 220 \rangle$

<221> SITIO

<222> 3..3

15 <223> X es M o Nle

$\langle 220 \rangle$

<221> SITIO

<222> 4..4

<223> X es P, F o M

20 <220>

<221> SITIO

<222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 33

25 Gly Tyr Xaa Xaa Xaa Ser
1 5

<210> 34

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

30 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

5 /organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

10 <220>

<221> SITIO

<222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

15 <221> SITIO

<222> 4..4

<223> X es P o N

<220>

<221> SITIO

20 <222> 5..5

<223> X es M o Nle

<400> 34

Asp Tyr Xaa Xaa Xaa Ser

1

5

<210> 35

25 <211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6
 <223> /tipo_mol="proteína"
 /nota="péptido"
 /organismo="Secuencia Artificial"

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> 2..2
 <223> FOSFORILIZACIÓN
 <220>

10 <221> SITIO
 <222> 3..3
 <223> X es M o Nle
 <220>
 <221> SITIO

15 <222> 5..5
 <223> X es M o Nle
 <400> 35

Glu Tyr Xaa Asn Xaa Asp
1 5

<210> 36
 20 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> FUENTE

25 <222> 1..6
 <223> /tipo_mol="proteína"
 /nota="péptido"
 /organismo="Secuencia Artificial"
 <220>

30 <221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<220>

<221> SITIO

5 <222> 3..3

<223> X es M o Nle

<220>

<221> SITIO

<222> 5..5

10 <223> X es M o Nle

<400> 36

Asp Tyr Xaa Thr Xaa Gln
1 5

<210> 37

<211> 6

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

20 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

25 <222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 37

Gly Tyr Met Phe Met Ser
1 5

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

10 <220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 38

Glu Tyr Met Asn Met Asp

1 5

15 <210> 39

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

25 /organismo="Secuencia Artificial"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 2..2

<223> FOSFORILIZACIÓN

30 <400> 39

Asp Tyr Met Thr Met Gln
1 5

<210> 40

<211> 6

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

<223> /tipo_mol="proteína"

10 /nota="péptido"

/organismo="Secuencia Artificial"

<400> 40

Asn Tyr Ile Cys Met Gly
1 5

<210> 41

15 <211> 12

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

20 <222> 1..12

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

25 <221> MOD_RES

<222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 41

Thr Asp Asp Gly Tyr Met Pro Met Ser Pro Gly Val
1 5 10

<210> 42

<211> 12

<212> PRT

5 <213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..12

<223> /tipo_mol="proteína"

10 /nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 5

15 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 42

Gly Asn Gly Asp Tyr Met Pro Met Asp Pro Lys Ser
1 5 10

<210> 43

<211> 12

20 <212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..12

25 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

30 <222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 43

Asp Pro Asn Gly Tyr Met Met Met Ser Pro Ser Gly
1 5 10

<210> 44

5 <211> 12

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

10 <222> 1..12

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

15 <221> MOD_RES

<222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 44

Gly Asn Gly Asp Tyr Met Pro Met Ser Pro Lys Ser
1 5 10

20 <210> 45

<211> 13

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

25 <221> FUENTE

<222> 1..13

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

30 <220>

<221> MOD_RES

<222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 45

5 Arg Glu Asn Glu Tyr Met Pro Met Ala Pro Gln Ile His
1 5 10

<210> 46

<211> 13

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

10 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..13

<223> /tipo_mol="proteína"

```
/nota="péptido"
```

```
15 /organismo="secuencias artificiales"
```

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

20 <400> 46

Glu Glu Glu Glu Tyr Met Pro Met Glu Asp Leu Tyr Leu
1 5 10

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

25 <213> secuencias artificiales

$\langle 220 \rangle$

<221> FUENTE

<222> 1..13

<223> /tipo_mol="proteína"

30 /nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 5

5 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 47

Thr	Asp	Asp	Gly	Tyr	Met	Pro	Met	Ser	Pro	Gly	Val	Ala
1				5					10			

<210> 48

<211> 13

10 <212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..13

15 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

20 <222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 48

Gly	Asn	Gly	Asp	Tyr	Met	Pro	Met	Ser	Pro	Lys	Ser	Val
1				5					10			

<210> 49

25 <211> 13

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

30 <222> 1..13

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

5 <221> MOD_RES

<222> 5

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 49

Ser	Asp	Gly	Gly	Tyr	Met	Asp	Met	Ser	Lys	Asp	Glu	Ser
1				5					10			

10 <210> 50

<211> 10

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

15 <221> FUENTE

<222> 1..10

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

20 <220>

<221> MOD_RES

<222> 4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 50

Arg	Asp	Gly	Tyr	Met	Thr	Met	Gln	Ile	Gly
1				5					10

25

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

30 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..9

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

5 /organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 4

<223> FOSFORILIZACIÓN

10 <400> 51

Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys
1 5

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

15 <213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..11

<223> /tipo_mol="proteína"

20 /nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 4

25 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 52

Asp Gly Gly Tyr Met Asp Met Ser Lys Asp Glu
1 5 10

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

5 <222> 1..10

<223> /tipo_mol="proteína" /nota="péptido" /organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 4

10 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 53

His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg
1				5					10

<210> 54

<211> 11

15 <212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..11

20 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

25 <222> 4

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 54

Asn	Gly	Asp	Tyr	Met	Pro	Met	Ser	Pro	Lys	Ser
1				5					10	

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

5 <221> FUENTE

<222> 1..10

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

10 <220>

<221> MOD_RES

<222> 3

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 55

	Gly	Asp	Tyr	Met	Pro	Met	Ser	Pro	Lys	Ser
	1				5					10

15 <210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

20 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..9

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

25 /organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 2

<223> FOSFORILIZACIÓN

30 <400> 56

Asp Tyr Met Pro Met Ser Pro Lys Ser
1 5

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

5 <213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..8

<223> /tipo_mol="proteína"

10 /nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 1

15 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 57

Tyr Met Pro Met Ser Pro Lys Ser
1 5

<210> 58

<211> 6

20 <212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..6

25 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 1

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 58

Tyr Met Pro Met Ser Pro
1 5

5 <210> 59

<211> 5

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

10 <221> FUENTE

<222> 1..5

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

15 <220>

<221> MOD_RES

<222> 1

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 59

Tyr Met Pro Met Ser
1 5

20

<210> 60

<211> 4

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

25 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..4

<223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

<222> 1

5 <223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 60

Tyr Met Pro Met
1

<210> 61

<211> 8

10 <212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..8

15 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

/organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

20 <222> 1

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 61

Tyr Met Pro Met Ser Pro Ala Ser
1 5

<210> 62

25 <211> 8

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..8

<223> /tipo_mol="proteína"

```
/nota="péptido"
```

```
/organismo="secuencias artificiales"
```

5 <220>

<221> MOD_RES

$\langle 222 \rangle$ 1

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 62

10

Tyr Met Pro Met Ser Ala Lys Ser
1 5

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

15 <220>

<221> FUENTE

<222> 1..8

<223> /tipo_mol="proteína"

```
/nota="péptido"
```

20 /organismo="secuencias artificiales"

$\langle 220 \rangle$

<221> MOD_RES

<222> 1

<223> FOSFORILIZACIÓN

25 <400> 63

Tyr Met Pro Met Ala Pro Lys Ser
1 5

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> secuencias artificiales

<220>

<221> FUENTE

<222> 1..8

5 <223> /tipo_mol="proteína"

/nota="péptido"

organismo="secuencias artificiales"

<220>

<221> MOD_RES

10 <222> 1

<223> FOSFORILIZACIÓN

<400> 64

Tyr Met Ala Met Ser Pro Lys Ser
1 5

Reivindicaciones

1. Péptido que comprende un motivo fosforilado GpYMFMS (SEQ ID NO: 37), donde dicho péptido comprende desde 6 a 20 aminoácidos.
- 5 2. Composición farmacéutica que comprende un péptido desde 6 a 20 aminoácidos que comprende un motivo fosforilado GpYMFMS (SEQ ID NO: 37)
3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para el uso en el tratamiento de cáncer.
- 10 4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para el uso en el tratamiento de una enfermedad relacionada con angiogénesis seleccionada del grupo que comprende enfermedad neovascular ocular, aterosclerosis, artritis, psoriasis, obesidad, y enfermedad de Alzheimer.
5. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende adicionalmente por lo menos un agente citotóxico, quimioterapéutico o anticáncer.

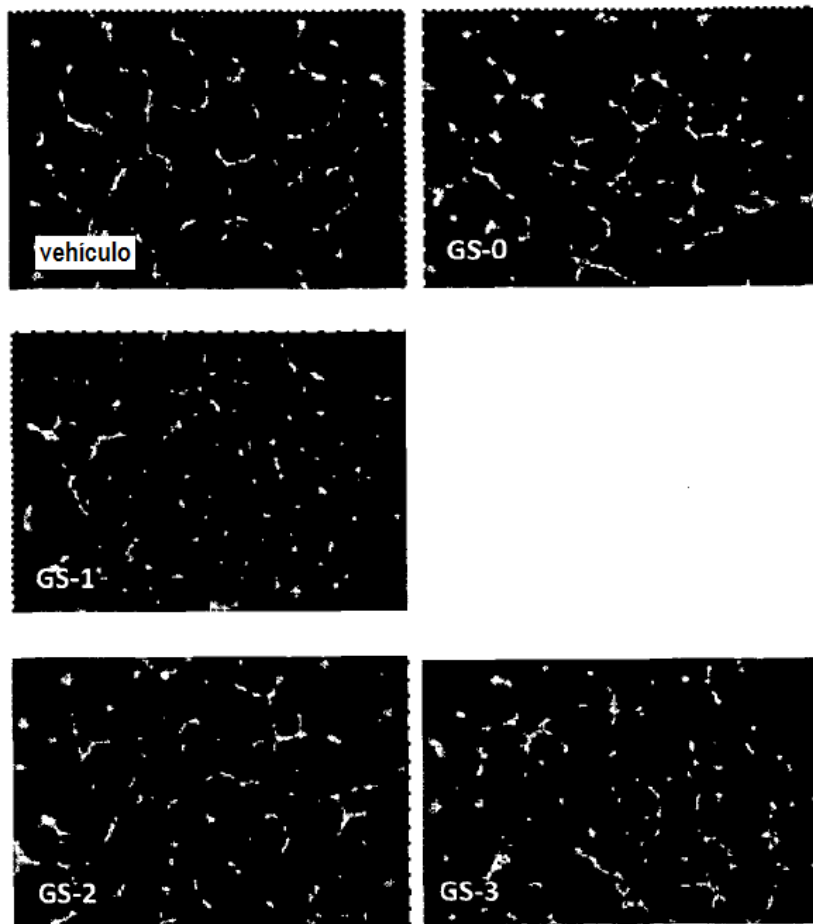


Figura 1

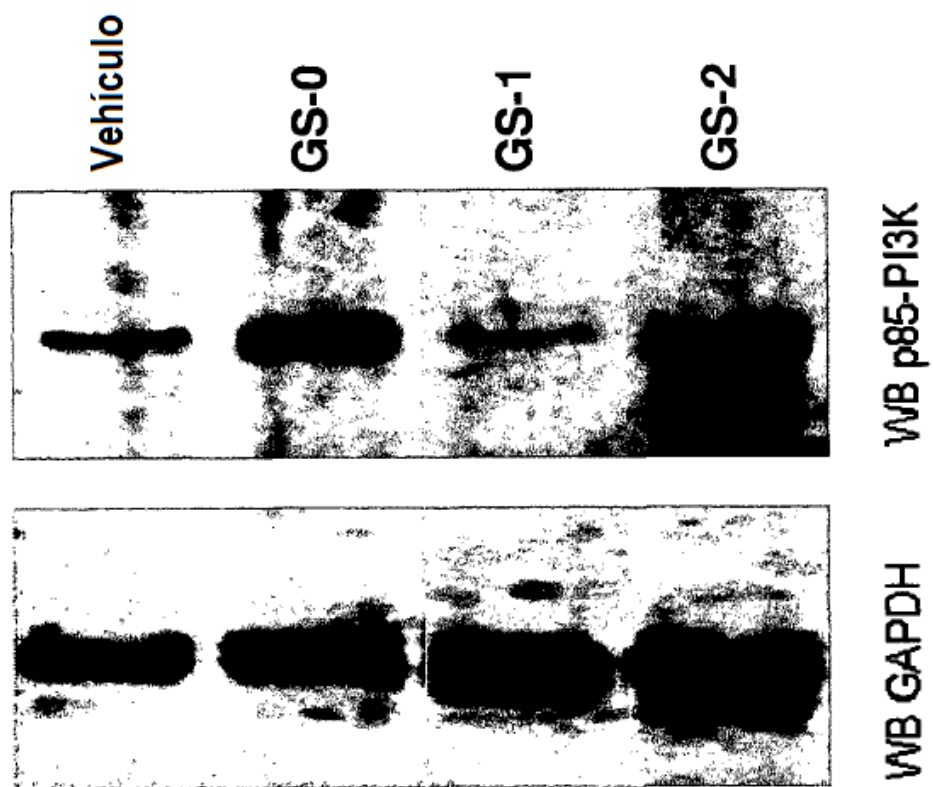
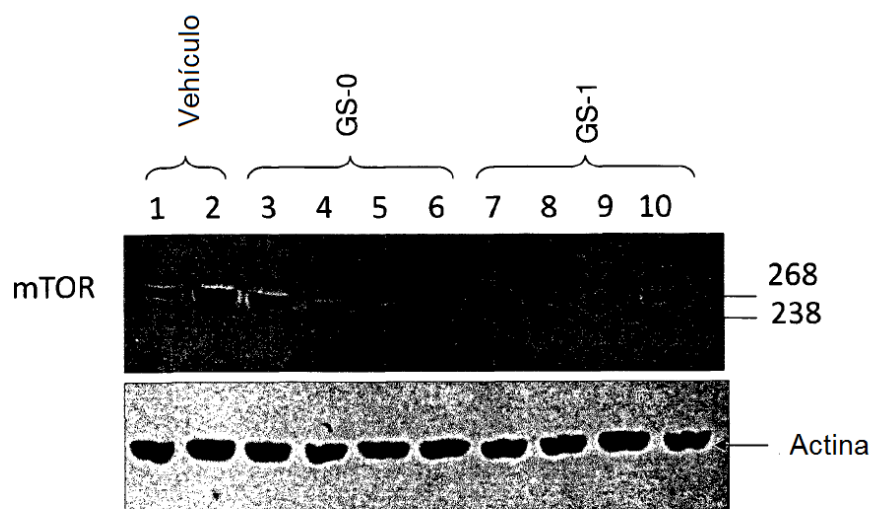


Figura 2

A



B

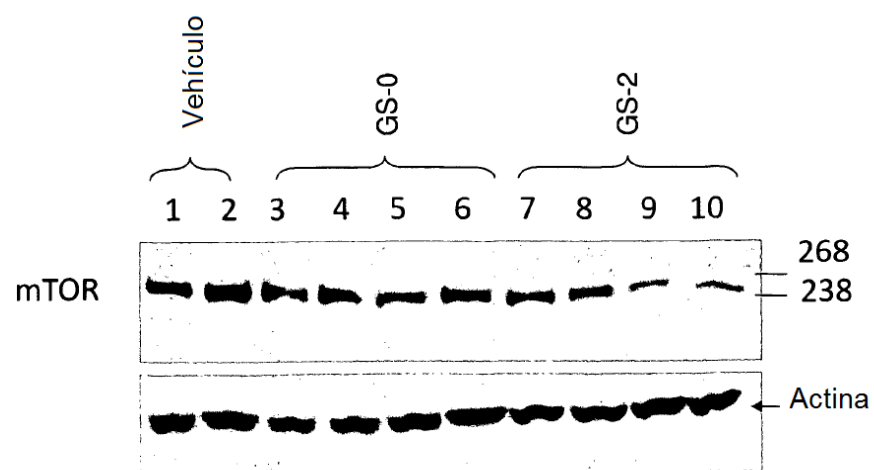


Figura 3

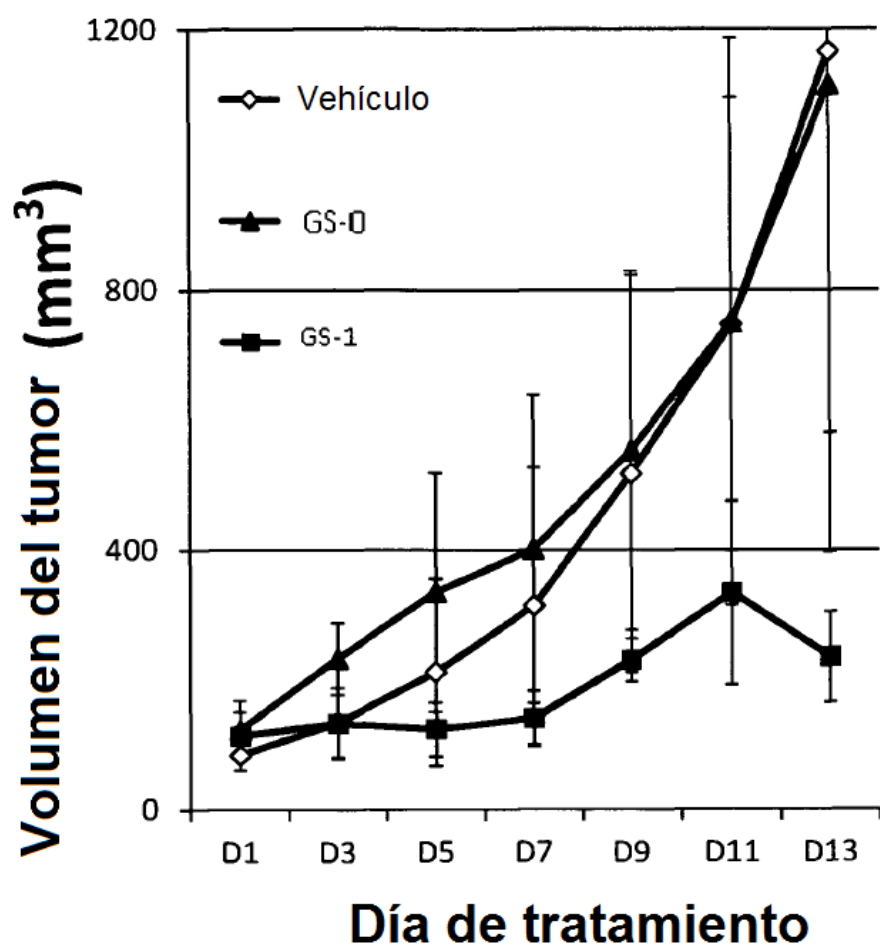


Figura 4

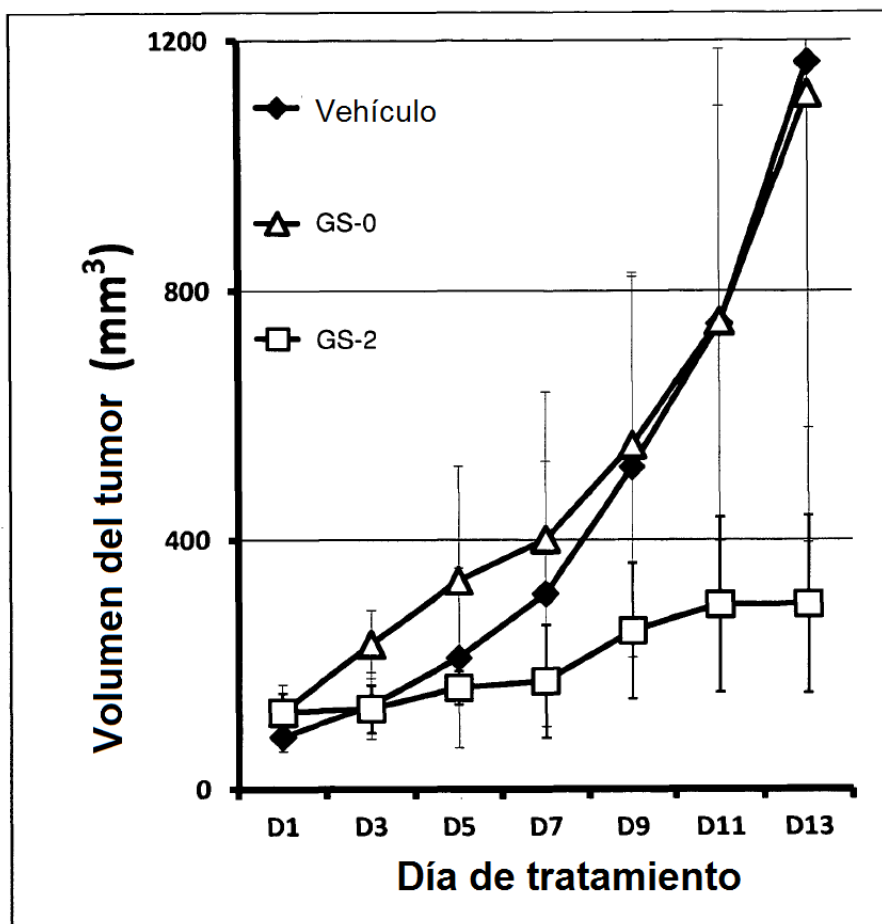


Figura 5