

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 856**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2014 PCT/IL2014/051058**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015 WO15083167**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2014 E 14824545 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019 EP 3076988**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas y procedimientos para el tratamiento y prevención del cáncer metastático**

30 Prioridad:
05.12.2013 US 201361912156 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.02.2020

73 Titular/es:
**IMMUNE SYSTEM KEY LTD. (100.0%)
Rozenblat 318/7 St.
9746024 Jerusalem, IL**

72 Inventor/es:
**DEVARY, YORAM y
SANDLER, UZIEL**

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 742 856 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

Composiciones farmacéuticas y procedimientos para el tratamiento y prevención del cáncer metastático

Campo tecnológico

La presente divulgación se refiere a la terapéutica del cáncer metastático.

5 **Técnica anterior**

Las referencias consideradas relevantes como antecedentes de la materia objeto desvelada en el presente documento se enumeran a continuación:

- [1] Fiorio Pla, A. y Gkika, D. 2013 *Frontiers in Physiology* 4 (Artículo 311): 1-12.
 [2] Benoist, S. y col., 2006 *J. Clinical Oncology* 24(24): 3939-3945.
 10 [3] WO 2006/046239.
 [4] WO 2007/12262
 [5] WO 2007/091240.
 [6] WO 2008/075349.
 [7] Diaz, V. M. y col. 2004 *GUT* 53:993-1000.
 15 [8] Kumar, S. y col., 2002 *The Journal of Biological Chemistry* Vol. 270 (46): 27905-27913
 [9] Gillibert-Duplantier, J. y col. 2012 *Oncogene* 31:3516-3524.

El reconocimiento de las referencias anteriores no se tiene que considerar como que significa que estas son de alguna manera relevantes para la patentabilidad de la materia objeto desvelada en el presente documento.

Antecedentes

20 De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, 7,6 millones de personas en el mundo murieron de cáncer en 2008. Es bien conocido que el cáncer es un término general que se refiere a un gran grupo de enfermedades que pueden afectar cualquier parte del cuerpo. Una característica que define el cáncer es la rápida creación de células anormales que crecen más allá de sus límites habituales, y que pueden invadir partes adyacentes del cuerpo y se diseminan a otros órganos en un proceso al que se hace referencia como metástasis.

25 La metástasis es la causa principal de mortalidad en el cáncer y depende de dos procesos clave: la migración células de las células cancerosas que invaden tejidos adyacentes seguido por la intravasación en los vasos sanguíneos/linfáticos y el sistema vascular tumoral, que les da acceso a la corriente sanguínea (1). La metástasis del cáncer se conoce como un proceso complejo multietapa que da lugar a la diseminación del cáncer a lo largo del cuerpo y a veces necesita una estrategia terapéutica que sea distinta de la estrategia que se escogió para tratar el
 30 cáncer primario.

Por ejemplo, en el carcinoma colorrectal, uno de los cánceres más comunes, aproximadamente el 50 % de los pacientes con carcinoma desarrollan metástasis hepática en algún punto durante el curso de su enfermedad (2). Los pacientes que son candidatos a la resección quirúrgica de sus metástasis hepáticas pueden tener esperar una supervivencia prolongada o incluso una cura. Lamentablemente, solo del 10 % al 25 % de los pacientes son
 35 candidatos a la resección hepática y en los pacientes con metástasis no operable, la quimioterapia es el tratamiento de elección.

La respuesta completa a un tratamiento en el cáncer se define habitualmente como la desaparición de las lesiones diana en las imágenes. Sin embargo, como publicaron Benoist, S. y col. (2), en más del 25 % de los casos, se descubrió enfermedad macroscópica residual durante la exploración quirúrgica en el sitio de metástasis hepática que se consideraba que habían desaparecido en las imágenes. Además, en los pacientes sin enfermedad evidente en la
 40 cirugía, se observó cáncer microscópico en el espécimen reseccionado del sitio de la metástasis hepática inicial en el 80 % de los pacientes. Finalmente, en los pacientes en los que no se observaron más tumores y en los que el sitio de respuesta completa se dejó en su sitio, se observó una recurrencia *in situ* en el 74 % de los casos después de 1 año.

45 Estos datos demuestran que, aunque ver una respuesta completa en las imágenes puede ser un criterio útil para la evaluación de la eficacia de la quimioterapia, no significa la cura del cáncer en la mayoría de los casos. Además, aunque ciertos tipos de cáncer metastáticos se trataban como una enfermedad crónica, prolongando de esta manera la vida de los pacientes, muchos tipos de cáncer metastático aún se consideran incurables.

Se identificó un péptido denominado "**T101**" que es codificado por un ADNc único por el timo humano. Este péptido estaba implicado *inter alia* en el tratamiento del cáncer mediante su papel como estimulante del sistema inmunitario (documento WO 2006/046239, 3). El documento WO 2006/046239 demuestra que el T101 es capaz de estimular el sistema inmunitario y reducir el tamaño tumoral, sugiriendo que el péptido afecta a la proliferación de las células cancerosas. También se ha sugerido del tratamiento del cáncer utilizando el T101 en el documento WO
 50 2007/122622 (4), que demuestra, *inter alia*, el efecto de T101 sobre el desarrollo de distintos tipos de tumores. El

péptido T101 también se describe en el documento WO 2007/091240 (5), relativo al tratamiento de enfermedades inmunológicas y el documento WO 2008/075349 (6), con relación al tratamiento o prevención de una enfermedad que tiene un receptor T1/ST2.

5 Sandler y col. (2010) (Recent Advances in Clinical Medicine) desvela un péptido hormonal humano, el NEROFE con una fuerte actividad anticáncer.

Sandler y col. (2010) (Journal of Experimental Therapeutics and Oncology) desvela el aislamiento de un factor de apoptosis de células tumorales (NEROFE).

10 El documento WO 2007/122622 desvela un procedimiento para la prevención o tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesite, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéutica de un polipéptido del timo o un fragmento farmacéuticamente activo del mismo.

Descripción general

15 En un aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4 o de cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en el que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4 para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de las metástasis del cáncer, en el que dicho cáncer es un cáncer metastático.

20 En otro aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o de cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en el que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4, para su uso en un procedimiento de reducción de la motilidad de células cancerosas en un paciente con cáncer.

25 En otro aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o de cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en el que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4, para su uso en un procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis en un paciente con cáncer.

También se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer.

30 También se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquier fragmento o derivado funcional del péptido aislado para su uso en un procedimiento de reducción de motilidad de las células cancerosas, evitando o inhibiendo la angiogénesis en un paciente con cáncer o disminución del nivel de un factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en un paciente de cáncer.

35 También se desvela un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer que comprende la administración a un paciente de cáncer que lo necesite de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

40 También se desvela un procedimiento de reducción de la motilidad de las células cancerosas, la prevención o inhibición de la angiogénesis en un paciente de cáncer o la disminución del nivel del VEGF en el suero de un paciente con cáncer, comprendiendo dichos procedimientos la administración a un paciente de cáncer diagnosticado de un cáncer con un potencial metastático de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

45 En algunos casos de la divulgación, el péptido aislado como se define en el presente documento comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

En otros casos de la divulgación, el péptido aislado de acuerdo con la invención consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

50 En casos adicionales de la divulgación, el péptido aislado como se define en el presente documento comprende una secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3, en el que uno o más restos de aminoácidos se reemplazan por una sustitución conservadora sin que afecte significativamente las características biológicas del péptido modificado en comparación con el péptido no modificado que tiene la SEQ ID NO: 3.

En otros casos de la divulgación, el péptido aislado como se define en el presente documento comprende una

secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3, en la que uno o más restos de aminoácido se remplazan por el resto de aminoácido D correspondiente.

En casos específicos de la divulgación, el péptido aislado de acuerdo con la invención consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

- 5 En casos adicionales de la invención, el péptido aislado como se define en el presente documento consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

En la anterior y otras realizaciones, la presente invención se refiere a un cáncer que es un cáncer metastático.

10 En algunas realizaciones, el cáncer metastático se selecciona de entre el grupo que consiste en cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer colorrectal, adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma rectal, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer renal, mieloma múltiple, cáncer tiroideo, cáncer de próstata, adenocarcinoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de intestino delgado, neoplasia de células fusiformes, carcinoma hepático, cáncer de hígado y enfermedades malignas del tracto genital femenino.

15 En realizaciones adicionales, la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención se adapta para la administración con al menos una terapia anticáncer adicional. En algunas realizaciones el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer de acuerdo con la invención comprende adicionalmente al menos una terapia anticáncer adicional.

20 En otras realizaciones la al menos una terapia del cáncer adicional como se define en el presente documento se selecciona de entre el grupo que consiste en un agente anti-angiogénico, un agente citotóxico, un agente quimioterápico, una terapia hormonal, radioterapia e inmunoterapia.

En otras realizaciones más la composición farmacéutica para su uso y los procedimientos de acuerdo con la invención se administran por una vía seleccionada de entre el grupo que consiste en intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, transcutánea, tópica, intraarticular, subconjuntival, oral, intranasal e intraocular.

Breve descripción de los dibujos

- 25 Con el fin de entender mejor la materia objeto que se desvela en el presente documento y para ejemplificar cómo se puede llevar a cabo en la práctica, se describirán ahora, a modo de ejemplos no limitantes solo, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

30 **Fig. 1:** una representación gráfica del efecto del péptido Nerofe (1-50 µg/ml) sobre la proliferación de las células cancerosas del adenocarcinoma pancreático humano ensayada en un ensayo de incorporación de BrdU (líneas superiores). La barra del gráfico inferior muestra el efecto del péptido Nerofe (a 1-50 µg/ml) sobre la capacidad de células de adenocarcinoma pancreático humano que secretan Activador del plasminógeno tisular (TPA) en el medio celular. Abreviaturas: TPA, activador del plasminógeno tisular; BrdU, Bromodesoxiuridina; y células de la línea 1, células de la línea 2, y células de la línea 3, células cancerosas de adenocarcinoma humano.

35 **Fig. 2:** es una representación gráfica del efecto del péptido Nerofe (1-50 µg/ml) sobre la proliferación de las células cancerosas del adenocarcinoma pancreático humano ensayada en un ensayo de incorporación de BrdU (líneas superiores). La barra del gráfico inferior muestra el efecto del péptido Nerofe (a 1-50 µg/ml) sobre la secreción de sST2 de las células de adenocarcinoma pancreático humano. Abreviaturas: sST2, ST2 soluble, BrdU, Bromodesoxiuridina; y células de la línea 1, células de la línea 2, y células de la línea 3, células cancerosas de adenocarcinoma humano.

40 **Fig. 3A - Fig. 3D:** son micrografías de células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano tomadas al principio de un ensayo de migración celular (Fig. 3A y Fig. 3B) y 27 horas después del inicio del ensayo de migración (Fig. 3C y Fig. 3D). Las células se incubaron durante 48 horas antes del inicio del ensayo en presencia de 25 µg/ml del péptido Nerofe (Fig. 3B y Fig. 3D) o sin el péptido (Fig. 3A y Fig. 3C).

45 **Fig. 4:** es un gráfico de barras que representa el porcentaje del área libre de células en un ensayo de migración celular llevado a cabo utilizando células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano que se incubaron durante 48 horas en presencia de 25 µg/ml del péptido Nerofe antes del inicio del ensayo de migración celular. Se llevaron a cabo dos ensayos independientes (T1 y T2). Las células de control utilizadas en cuatro ensayos independientes se indican como CON1, CON2, CON3 y CON4. El porcentaje del área libre de células se calculó dividiendo el área libre de células obtenida 27 horas después del inicio del experimento por el área libre de células obtenida 1 hora después de iniciar el experimento.

50 **Fig. 5:** representación gráfica de los niveles de VEGF en el suero de pacientes a los que se administra el péptido Nerofe a 6 mg/m² (0,16 mg/kg de peso corporal, línea discontinua) o 12 mg/m² (0,32 mg/kg de peso corporal, línea continua) en los puntos de tiempo indicados. Abreviaturas: pt002, pt004, pt007, pt011, que tienen cánceres de colon; pt005, un paciente que tiene un cáncer colorrectal; y pt006 un paciente que tiene una neoplasia

cancerosa de células fusiformes.

Fig. 6: representación gráfica de los niveles de VEGF en el suero de pacientes a los que se administra el péptido Nerofe a 24 mg/m² (0,64 mg/kg de peso corporal, línea discontinua) o 48 mg/m² (1,28 mg/kg de peso corporal, línea continua) en los puntos de tiempo indicados. Abreviaturas: pt012 un paciente que tiene un cáncer pancreático; pt013, un paciente que tiene un cáncer de intestino delgado; pt015, un paciente que tiene un carcinoma hepático; pt016, un paciente que tiene un carcinoma hepático; pt017, un paciente que tiene un cáncer adenocarcinoma de colon; y pt019, un paciente que tiene un adenocarcinoma rectal.

Descripción detallada

La presente invención se basa en la observación de que un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu Trp Glu Arg Lys en la que todos los restos de aminoácidos están en su configuración D, denominado en el presente documento "Nerofe", disminuía la secreción por las células cancerosas de proteínas que se sabe que están asociadas con la metástasis del cáncer (es decir, el activador del plasminógeno tisular (TPA) y el ST2 soluble (sST2)). Se demostró que este péptido inhibía directamente la migración de las células cancerosas *in vitro*. Además, se demostró que disminuía el nivel sérico de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en pacientes con cáncer.

Basándose en la disminución de la secreción de TPA y sST2 por las células cancerosas al exponerlas al péptido Nerofe, el efecto directo del péptido sobre la capacidad de migración de las células cancerosas *in vitro* y basándose en el efecto del péptido Nerofe sobre los niveles de VEGF en el suero observado en los pacientes con cáncer, la presente invención proporciona procedimientos y usos del péptido Nerofe en la inhibición de la metástasis del cáncer.

Por lo tanto, en un ejemplo se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer.

El término "**péptido**" como se define en el presente documento se refiere a una cadena molecular de restos de aminoácido, que, si es necesario, se puede modificar en cada uno de sus restos de aminoácido, por ejemplo, mediante fosforilación, glicosilación, amidación (por ejemplo, con amidas del extremo C), carboxilación o fosforilación. El péptido se puede obtener sintéticamente, mediante procedimientos de modificación genética, expresión en una célula huésped, o a través de otro medio adecuado. Los procedimientos para la producción de péptidos se conocen bien en la técnica.

El término "**aislado**" se refiere a moléculas, tales como secuencias de aminoácidos o péptidos que se retiran, se aíslan o se separan de su entorno natural.

El término "**aminoácido**" como se utiliza en el presente documento, se refiere a restos de aminoácido de origen natural y sintético, así como análogos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen natural son los que están codificados por el código genético, así como los aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, la hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, y O-fosfoserina.

El término aminoácido también engloba los D-aminoácidos, que son imágenes de espejo de los L-aminoácidos, en los que se ha invertido la quiralidad del carbono alfa. Los D-aminoácidos son altamente resistentes a la degradación mediada por proteasas y tienen una baja respuesta inmunogénica.

Las expresiones "**secuencia de aminoácidos**" o "**secuencia peptídica**" también se refiere al orden en el que los restos de aminoácido, conectados por enlaces peptídicos, se disponen en la cadena de péptidos y proteínas. La secuencia se declara generalmente desde el extremo N que contiene el grupo amino libre hasta el extremo C que contiene el grupo carboxilo libre.

Como se ejemplifica posteriormente, se demostró que el péptido denominado "**Nerofe**" en el presente documento, que tiene la secuencia de Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu Trp Glu Arg Lys en la que todos los restos de aminoácido están en su configuración D (indicado por SEQ ID NO: 4) disminuía la secreción de TPA y sST2 por las células cancerosas y que inhibía directamente la migración de las células cancerosas, sugiriendo su potencial en la inhibición de la metástasis del cáncer.

El péptido que tiene la secuencia de Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu Trp Glu Arg Lys en la que todos los restos de aminoácido son restos de aminoácido L (indicado en el presente documento por SEQ ID NO: 3) es un fragmento del extremo C del péptido denominado "**péptido T101 completo**" *thai* que se describió en el documento WO 2006/046239 (3).

El péptido T101 completo tiene una secuencia de 84 aminoácidos de longitud, que se indica por la SEQ ID NO: 1. La eliminación de su péptido de señal de 33 aminoácidos del extremo N da lugar a un fragmento peptídico indicado en el presente documento por SEQ ID NO: 2 y se denomina "**péptido T101**". El péptido T101 tiene 51 aminoácidos de

longitud. Las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, así como de SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, se detallan en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1 Secuencias de aminoácidos de péptidos

SEQ ID NO.	Secuencia	Descripción
1	MMALRSQGLMLPQSCPQLAF LTLAALAAVFSALHLWLSG EPVQSSGTKDMRSKSDSKRV SDKQLISKAVWWTFFLPSTL WERK	Péptido del timo de longitud completa, también llamado "péptido T101 completo".
2	LHLWLSGEPVQSSGTKDMRS KSDSKRVSDKQLISKAVWWT FFLPSTLWERK	Péptido del timo de longitud completa, carente de sus 33 aminoácidos del extremo N, también llamado "péptido T101".
3	WWTFFLPSTLWERK (todos L)	Fragmento de 14 aminoácidos del extremo C del "péptido T101 completo" (o el "péptido T101").
4	WWTFFLPSTLWERK (todos D)	Fragmento de 14 aminoácidos todos D del extremo C del "péptido T101 completo" (o el "péptido T101").

5 El péptido aislado que se emplea en la invención es un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o de cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en el que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4 para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de las metástasis del cáncer, en el que dicho cáncer es un cáncer metastático.

10 También se desvela un péptido aislado que comprende al menos un fragmento del extremo C contiguo del péptido denominado en el presente documento "péptido T101 completo", por ejemplo, pero sin limitarse a, la secuencia de aminoácidos indicada por SEQ ID NO: 3, que es el fragmento del extremo C de 14 aminoácidos del péptido T101 completo.

15 En algunos ejemplos de la divulgación el péptido aislado comprende un fragmento contiguo del extremo C del péptido T101 completo que incluye al menos 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 o 84 restos de aminoácidos del extremo C del péptido T101 completo (indicado por SEQ ID NO: 1).

20 Específicamente, la expresión "**péptido aislado**" se refiere a un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos indicada por SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado. En algunos casos de la divulgación, el péptido aislado es el péptido T101 completo como se define posteriormente (que tiene la SEQ ID NO: 1) o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado. En otros casos de la divulgación, el péptido aislado es el péptido T101 del timo carente de sus 33 aminoácidos del extremo N (que tiene la SEQ ID NO: 2) o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

25 Por la expresión "**que comprende**" se quiere decir que el péptido aislado de la divulgación incluye el péptido indicado por SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 4, pero que puede incluir también restos de aminoácido adicionales en el extremo N o el extremo C del péptido indicado por SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, por ejemplo, pero sin limitarse a, el péptido aislado de la divulgación puede comprender las secuencias indicadas por SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, como se detalla posteriormente.

30 Por lo tanto, en algunos ejemplos de la divulgación la composición farmacéutica que se utiliza se refiere a un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu Trp Glu Arg Lys como se indica por SEQ ID NO: 3, o cualquier fragmento o derivado de dicho péptido aislado.

En otros ejemplos la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

35 En ejemplos adicionales la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

En más ejemplos adicionales la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

Los derivados o péptidos modificados de los péptidos aislados como se definen en el presente documento también

se engloban en la presente invención. Los términos **"modificados"**, **"derivados"** o **"derivados del péptido aislado"** quieren decir que incluyen los péptidos que se diferencian en uno o más aminoácidos en la secuencia total, a saber, que tienen eliminaciones, sustituciones (por ejemplo, sustituciones de al menos un aminoácido por otro aminoácido mediante una sustitución conservadora), inversiones o adiciones. El término también engloba la sustitución de al menos un resto de aminoácido en la secuencia total por su respectivo resto de aminoácido D.

Por ejemplo, el péptido Nerofe (indicado por SEQ ID NO: 4) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, en la que todos los restos de aminoácido se han sustituido por su correspondiente aminoácido D.

Las **"sustituciones"** de aminoácidos son el resultado de sustituir un aminoácido con otro aminoácido que tiene propiedades estructurales y/o químicas similares, es decir, sustituciones de aminoácidos conservadoras. Las sustituciones de aminoácidos se pueden realizar basándose en la similitud en polaridad, carga, solubilidad, hidrofobia, hidrofilia, y/o naturaleza anfipática del resto implicado. Por ejemplo, cada uno de los ocho grupos siguientes contiene aminoácidos que son sustituciones conservadoras entre ellos:

- 1) Alanina (A), Glicina (G);
- 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E);
- 3) Asparagina (N), Glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), Lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V);
- 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W);
- 7) Serina (S), Treonina (T); y
- 8) Cisteína (C), Metionina (M).

Los fragmentos del péptido aislado de SEQ ID NO: 4 también se incluyen en la presente invención. El término **"fragmento"** se refiere a cualquier péptido que es más corto al menos en un aminoácido que el péptido aislado de acuerdo con la invención, obtenido por la eliminación de al menos un resto de aminoácido a partir del péptido de acuerdo con la invención.

También se desvela un fragmento del péptido aislado que comprende el péptido T101 completo (indicado por SEQ ID NO: 1) y puede ser un fragmento de al menos aproximadamente 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 u 84 restos de aminoácidos del extremo C del péptido T101 completo.

Los péptidos modificados específicos del péptido aislado desvelado comprenden una secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, en el que uno o más restos de aminoácidos se reemplaza mediante una sustitución conservadora sin que afecte significativamente las características biológicas del péptido modificado en comparación con el péptido no modificado que tiene la secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, respectivamente.

En algunos casos, la secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4 tiene al menos un 70 %, preferentemente un 80 %, más preferentemente un 90 %, en particular el 100 % de identidad con las secuencias correspondientes de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, respectivamente.

Los péptidos derivados de la divulgación también engloban cualquier proteína de fusión o conjugado que comprendan la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, así como cualquier péptido aislado como se define en el presente documento que se empareje a través de al menos uno de sus restos a un agente adicional (por ejemplo, un agente de estabilización, un agente anti-angiogénico, un agente citotóxico, etc.).

También se contemplan los fragmentos modificados. Por ejemplo, un fragmento modificado puede ser un péptido que incluya una secuencia contigua de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 o al menos 80 restos de aminoácidos desde el extremo C del péptido T101 completo que tiene un grado de identidad de al menos un 70 %, preferentemente al menos un 80 %, más preferentemente al menos un 90 % y particularmente al menos el 100 % con una secuencia correspondiente de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 o al menos 80 aminoácidos incluida en el péptido T101 completo.

Se aprecia que estos fragmentos de péptido o derivados no deben alterar la actividad biológica del péptido original. Las expresiones **"funcional"** o **"sin afectar significativamente las características biológicas del péptido modificado en comparación con el péptido no modificado"** significa que indica que el péptido modificado mantiene una actividad biológica cualitativamente similar a la del péptido sin modificar.

La expresión **"características biológicas"** cuando se hace referencia al péptido aislado de la invención engloban la inhibición de la migración de células cancerosas, reducción del nivel secretado de Activador del Plasminógeno tipo tisular (TPA), la reducción del nivel secretado de ST2 soluble en las células cancerosas y la reducción de los niveles secretados de VEGF.

Con el fin de determinar si un péptido mantiene sus características biológicas cualitativamente similares a las del péptido no modificado, se pueden llevar a cabo uno o más ensayos, tales como por ejemplo, un experimento *in vitro*, *in vivo* o clínico en el que se compare un péptido modificado con el no modificado correspondiente que se ensaya en paralelo; o un experimento en el que el péptido modificado se ensaya para determinar si tiene un efecto biológico similar al del péptido no modificado como se sabe por el experimento llevado a cabo por separado. Dicho experimento se puede llevar a cabo, por ejemplo, de la manera que se describe en los Ejemplos posteriormente.

En algunos casos específicos de fragmentos, derivados o péptidos modificados funcionales, en los que dichos fragmentos, derivados o péptidos modificados funcionales tienen una secuencia de aminoácidos que es al menos un 70 %, preferentemente al menos un 80 %, más preferentemente al menos un 90 % y particularmente al menos un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del péptido aislado no modificado se desvelan, a saber, en una de las secuencias de aminoácidos indicadas por SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4.

En otros ejemplos la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, en el que uno o más restos de aminoácidos se reemplazan por una sustitución conservadora sin que afecte significativamente las características biológicas del péptido modificado en comparación con el péptido no modificado que tiene la SEQ ID NO: 3 o respectivamente la SEQ ID NO: 4.

En ejemplos adicionales la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, en el que uno o más restos de aminoácidos se reemplazan por una sustitución conservadora sin que afecte significativamente las características biológicas del péptido modificado en comparación con el péptido no modificado que tiene la SEQ ID NO: 3 o respectivamente la SEQ ID NO: 4, en la que dicha secuencia de aminoácidos modificada es al menos un 70 %, preferentemente al menos un 80 %, más preferentemente al menos un 90 % y particularmente al menos un 95 % idéntica a la secuencia de aminoácidos del péptido no modificado que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o respectivamente la SEQ ID NO: 4.

En más ejemplos adicionales la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que comprende una secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3, en la que uno o más restos de aminoácido se reemplazan por el resto de aminoácido D correspondiente.

En más ejemplos adicionales la composición farmacéutica que se utiliza es un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 4.

En una realización la composición farmacéutica que se utiliza de acuerdo con la invención es un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

Como se ejemplifica posteriormente, se demostró que el péptido denominado "**Nerofe**" en el presente documento inhibe directamente la motilidad o migración celular en células de cáncer pancreático y células de cáncer de mama. La capacidad de las células cancerosas para migrar desde su sitio original a una localización diferente del cuerpo es una de las etapas básicas de la metástasis del cáncer.

La expresión "**metástasis del cáncer**" como se define en el presente documento se refiere al proceso de diseminación o migración de un cáncer desde la localización en la que se desarrolló primero a otra localización o sitio en el cuerpo. La expresión metástasis del cáncer también se refiere a un tumor formado por células cancerosas metastáticas en una localización que es diferente del sitio original de las células cancerosas metastáticas. Un tumor formado por células metastáticas también se llama un tumor metastático.

La metástasis de células cancerosas implica las siguientes etapas: la invasión de las células cancerosas del tejido normal cercano; intravasación, por la que las células cancerosas invaden y se trasladan a través de las paredes de los vasos linfáticos cercanos; la circulación de las células cancerosas por el sistema linfático y la corriente sanguínea a otras partes del cuerpo; detención y extravasación, por la que las células cancerosas se detiene en pequeños vasos en una localización distante y entonces invaden las paredes de los capilares y migran al tejido circundante (extravasación); la proliferación de las células cancerosas en la localización distante para formar pequeños tumores conocidos como micrometástasis; y la angiogénesis, la estimulación del crecimiento de nuevos vasos por las micrometástasis para obtener un suministro de sangre. Los sitios más comunes de la metástasis del cáncer son huesos, hígado, pulmón y cerebro.

La presente invención engloba cualquier enfermedad cancerosa que puede formar metástasis o crecimiento secundario.

La predicción de los tipos de cáncer que desarrollarán en último término metástasis se puede llevar a cabo por un médico experto (por ejemplo, un médico especializado en oncología). Una predicción del potencial metastático del cáncer se basa *inter alia*, en el estadio total del cáncer, incluyendo el tamaño, profundidad y si están implicados los ganglios linfáticos o no. Otros indicadores pueden ser el grado del tumor y los ensayos genéticos y proteicos.

La identificación o diagnóstico de las metástasis del cáncer se puede llevar a cabo por un médico experto, por

ejemplo, siguiendo la aparición de síntomas tales como dolor óseo, tos persistente, y dolor de cabeza que pueden ser signos de cáncer metastático. Además, el cáncer metastático se puede detectar con exploraciones de rutina, tal como ensayos de la sangre, creación de imágenes (por ejemplo, rayos X, tomografía de emisión positrónica y tomografía computarizada (PET/CT), creación de imágenes por resonancia magnética (MRI), exploración ósea, MRI y CT) y una biopsia que se hace habitualmente para confirmar una sospecha diagnóstica.

Por lo tanto, en algunas realizaciones la invención se refiere a un cáncer que se clasifica como un "**cáncer metastático**", a saber, cualquier tipo de cáncer que se conoce en la técnica que tiene un potencial metastático.

Por lo tanto, en la realización anterior y otras, el cáncer englobado por la presente invención es un cáncer metastático.

En realizaciones específicas, el cáncer metastático como se define en el presente documento, se selecciona de entre el grupo que consiste en cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer colorrectal, adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma rectal, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer renal, mieloma múltiple, cáncer tiroideo, cáncer de próstata, adenocarcinoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de intestino delgado, neoplasia de células fusiformes, carcinoma hepático, cáncer de hígado y enfermedades malignas del tracto genital femenino.

Como se muestra en los ejemplos adjuntos, el nivel sérico de VEGF disminuía aproximadamente un 30-40 % cuando se administró a los pacientes Nerofe a una dosis de 24 mg/m² o 48 mg/m² (dado en unidades de área de superficie corporal y traducido a aproximadamente 0,64 o aproximadamente 1,28 mg/kg de peso corporal, respectivamente). La disminución en el nivel sérico de VEGF era particularmente significativa para los pacientes de cáncer que tienen cánceres de adenocarcinoma de intestino delgado y rectal.

Como se sabe en la técnica el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una proteína de señal producida por las células que estimula la vasculogénesis y angiogénesis. La función normal del VEGF es crear nuevos vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario, nuevos vasos sanguíneos después de una lesión, del músculo con el ejercicio, y nuevos vasos para puentear los vasos bloqueados. Se sabe que la sobre expresión de VEGF puede contribuir a la enfermedad. Como los cánceres sólidos no crecen más allá de un tamaño limitado sin un suministro adecuado de sangre, los cánceres que expresan VEGF son capaces de crecer y metastatizar.

La disminución observada en el nivel sérico de VEGF como resultado de la administración del péptido Nerofe a pacientes de cáncer es un claro efecto anti-angiogénico del péptido Nerofe.

Por lo tanto, mediante otro de los aspectos la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado como se define en el presente documento para su uso en un procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis en un paciente de cáncer. En una realización específica, la angiogénesis es una angiogénesis asociada al tumor. En un ejemplo específico la angiogénesis se asocia con el VEGF. En algunos ejemplos se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis.

En ejemplos adicionales se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis.

Como se sabe en la técnica, el término "angiogénesis" se refiere al proceso por el que se forman los vasos sanguíneos y está implicado en distintos procesos fisiológicos o patológicos que incluyen la reparación heridas, la reproducción, la respuesta a la isquemia, la artritis, psoriasis, retinopatías, crecimiento de tumores sólidos y diseminación del tumor metastático. La angiogénesis es un proceso altamente controlado que depende del equilibrio intrincado de factores promotores e inhibidores.

Por la expresión "**prevención o inhibición de la angiogénesis**" se quiere decir cualquier restricción, retraso, reducción, disminución o angiogénesis al menos aproximadamente un 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o aproximadamente 100 %.

Por la expresión prevenir o inhibir la angiogénesis también se quiere decir la prevención o inhibición de la formación de nuevos vasos sanguíneos, incluyendo, pero sin limitarse a la inhibición de la vasculogénesis (la formación de novo de células endoteliales a partir de los precursores celulares mesodérmicos).

El efecto de los péptidos aislados como se define en el presente documento sobre la angiogénesis se puede monitorizar mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, por imágenes o monitorizando los marcadores fisiológicos asociados con la angiogénesis (por ejemplo, el factor endotelial vascular).

Como se sabe en la técnica y se ha indicado anteriormente, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un factor mitogénico que estimula las propiedades proangiogénicas, que incluyen la migración celular endotelial, la formación de un tubo y la proliferación. El reconocimiento del VEGF como estímulo primario de la angiogénesis en

condiciones patológicas ha dado lugar a varios intentos para bloquear la actividad del VEGF.

Sin el deseo de quedar ligados por teoría alguna, la disminución observada en el nivel sérico de VEGF como resultado de la administración del péptido Nerofe a pacientes de cáncer, como se muestra en la Figura 6, indica un efecto anti-angiogénico del péptido Nerofe.

- 5 Por lo tanto, en otro más de los aspectos de la presente divulgación se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado como se define en el presente documento para su uso en un procedimiento de disminución del nivel de VEGF en un paciente de cáncer.

10 La medición del nivel de VEGF en un paciente de cáncer al que se ha administrado el péptido aislado como se define en el presente documento se puede llevar a cabo utilizando cualquier procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, obteniendo muestras biológicas (por ejemplo, de sangre) del paciente antes de comenzar el tratamiento con el péptido aislado como se define en el presente documento y en distintos momentos durante el tratamiento y después de este. Los niveles de VEGF en estas muestras biológicas pueden determinarse siguiendo procedimientos bien conocidas en la técnica.

15 Una disminución del nivel de VEGF se observa cuando los niveles séricos del VEGF en las muestras biológicas obtenidas de un paciente de cáncer después del inicio del tratamiento con el péptido aislado como se define en el presente documento son menores que los niveles de suero de VEGF en las muestras biológicas obtenidas de un paciente de cáncer antes de iniciar el tratamiento.

20 Cualquier disminución del nivel sérico de VEGF en la sangre de un paciente de cáncer al que se administró el péptido aislado como se define en el presente documento se engloba en la presente invención. En realizaciones específicas en el nivel sérico de VEGF puede ser de al menos un 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o aproximadamente 100 %.

En algunos ejemplos se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de disminución del nivel del VEGF.

- 25 En ejemplos adicionales se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de disminución del nivel del VEGF.

30 Ejemplos adicionales de la divulgación se refiere a un cáncer metastático que se asocia con la sobre expresión de VEGF. Por ejemplo, el cáncer metastático como se define en el presente documento puede ser, pero no se limita a cáncer pancreático, cáncer de intestino delgado, adenocarcinoma rectal, cáncer de colon, cáncer colorrectal, neoplasia de células fusiformes, carcinoma pulmonar de células no pequeñas, carcinoma hepático y adenocarcinoma rectal.

En realizaciones específicas adicionales, la invención se refiere a un cáncer metastático que sea un cáncer pancreático, un cáncer de mama, cáncer de intestino delgado o adenocarcinoma rectal.

- 35 Como se sabe en la técnica, la expresión "**cáncer pancreático**" como se define en el presente documento se refiere al crecimiento incontrolado de las células que componen el páncreas (un órgano glandular localizado detrás del estómago). Estas células cancerosas tienen la capacidad de invadir o diseminarse a otras partes del cuerpo. Existen varios tipos diferentes de cáncer pancreático, pero el adenocarcinoma pancreático es aproximadamente el 85 % de los casos.

40 La expresión "**cáncer de mama**" como se define en el presente documento y como se conoce en la técnica se refiere a un cáncer que se forma en los tejidos mamarios. El tipo más común de cáncer de mama es el carcinoma ductal, que comienza en el revestimiento de los conductos lácteos. Otro tipo de cáncer de mama es el carcinoma lobulillar, que comienza en los lóbulos (glándulas mamarias) de la mama. El cáncer de mama invasivo es el cáncer de mama que se ha diseminado desde donde comienza en los conductos o lóbulos mamarios al tejido normal circundante.

45 Como se sabe en la técnica, la expresión "**cáncer de intestino delgado**" es una rara enfermedad en la que se forman células cancerosas malignas en los tejidos del intestino delgado.

50 La expresión "**adenocarcinoma rectal**" se refiere a una enfermedad en la que se forman células cancerosas en los tejidos del recto. Los adenocarcinomas comprenden la inmensa mayoría (un 98 %) de los cánceres de colon y rectal y los cánceres rectales más raros incluyen el linfoma (un 1,3 %), carcinoide (un 0,4 %) y sarcoma (un 0,3 %).

En ejemplos adicionales se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado, para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer pancreático o de mama.

En más realizaciones adicionales la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer pancreático.

- 5 El uso de los procedimientos y la composición farmacéutica que se pretende para su uso de acuerdo con la invención es la prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer en un sujeto que lo necesite.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, los procedimientos y composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la presente invención tienen la intención de prevenir la formación de metástasis del cáncer en un paciente diagnosticado como que tiene cáncer. En dichos casos, la composición farmacéutica de la invención se puede administrar *per se* o en combinación con otros agentes anticáncer como un plan "preventivo" o adyuvante, que se va a administrar además de la terapia principal que se administra a un individuo diagnosticado de cáncer. La terapia principal puede ser por ejemplo la cirugía y/o quimioterapia.

La expresión "**terapia adyuvante**" se refiere a un tratamiento que se da además del tratamiento primario, principal o inicial. Algunos ejemplos no limitantes de terapia adyuvante administrada a un paciente de cáncer actualmente conocidos son quimioterapia, terapia hormonal, terapia biológica, radioterapia, o una combinación de las mismas dependiendo del tipo de cáncer. La terapia adyuvante se diseña para disminuir el riesgo de metástasis futuras, pero no es una garantía contra la recurrencia.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención es en la que dicha composición farmacéutica se adapta para la administración con al menos una terapia anticáncer adicional.

20 A saber, en uno de sus aspectos, la invención proporciona procedimientos y composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento de un sujeto diagnosticado de cáncer (un paciente de cáncer) opcionalmente en combinación con el tratamiento primario, principal o inicial, con el fin de prevenir el desarrollo de metástasis del cáncer.

La administración de la composición farmacéutica se puede llevar a cabo antes, simultáneamente o después de la administración de al menos una terapia anticáncer adicional.

25 La expresión "**al menos una terapia anticáncer adicional**" como se define en el presente documento se refiere a cualquier terapia anticáncer conocida en la técnica, por ejemplo, pero no limitada a, un agente anti-angiogénico, un agente citotóxico, un agente quimioterápico (por ejemplo, agentes alquilantes, antimetabolitos, inhibidores de la topoisomerasa y antibióticos citotóxicos), terapia hormonal (por ejemplo, tamoxifeno para el tratamiento del cáncer de mama), radioterapia e inmunoterapia (por ejemplo, terapias basadas en células, terapias con anticuerpos o terapia con citocinas).

La expresión "**agente anti-angiogénico**" como se define en el presente documento se refiere a una sustancia que inhibe el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis). Algunos ejemplos no limitantes de agentes que inhiben la angiogénesis son agentes que reducen la producción de factores proangiogénicos e inhibidores de la ruta del VEGF, por nombrar unos pocos. Los inhibidores de la ruta del VEGF puede ser, por ejemplo, inhibidores de la tirosina cinasa y anticuerpos dirigidos contra el VEGF o VEGFR, tal como el Bevacizumab (Avastin) que se une al VEGF e inhibe su unión con los receptores del VEGF.

Por lo tanto, en la anterior y otras realizaciones, dicha al menos una terapia adicional del cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste en un agente anti-angiogénico, un agente citotóxico, un agente quimioterápico, una terapia hormonal, radioterapia e inmunoterapia.

40 El término "**prevención**" como se define en el presente documento significa cualquier restricción, retraso, disminución, ocultación, inhibición, obstrucción o supresión de la formación de metástasis del cáncer en un individuo diagnosticado de cáncer (un paciente de cáncer), donde el cáncer puede haberse diagnosticado opcionalmente como un cáncer metastático.

El término prevención como se define en el presente documento significa cualquier restricción, retraso, reducción, disminución, ocultación, inhibición, obstrucción o supresión de la formación de metástasis del cáncer durante al menos aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, o aproximadamente el 100 %.

La invención también proporciona una composición farmacéutica como se define en el presente documento para su uso en un procedimiento de tratamiento de la metástasis del cáncer. En otras palabras, el procedimiento de acuerdo con la invención también puede ser útil para el "**tratamiento de la metástasis del cáncer**", que se define en el presente documento como la prevención de la diseminación continua o adicional de células cancerosas metastáticas después de que se diagnosticara la metástasis en un paciente de cáncer.

La expresión "**paciente de cáncer**" o "**paciente de cáncer que necesita el mismo**" como se define en el presente documento se refiere por lo tanto a animales de sangre caliente, en particular seres humanos que se han diagnosticado como que tienen un cáncer *inter alia*, un cáncer metastático. El término "tratar", "tratamiento" o formas

de los mismos, significa prevenir, inhibir, detener o aliviar la enfermedad o afección del paciente.

El nivel de ocultación, inhibición, obstrucción o supresión de la formación de metástasis del cáncer se puede evaluar experimentalmente llevando a cabo análisis adecuados en presencia del péptido aislado de la invención, como se conoce en la técnica. Un médico experto puede llevar a cabo una evaluación clínica del nivel de ocultación, inhibición, obstrucción, o supresión de la formación de metástasis del cáncer, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente.

La composición farmacéutica o la composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención se puede administrar y dosificar de acuerdo con la buena práctica médica, por ejemplo, sistémicamente mediante inyección parenteral, intravenosa, intraperitoneal o intramuscular. En otro ejemplo, la composición farmacéutica se puede introducir en un sitio mediante cualquier vía incluyendo a administración intravenosa, subcutánea, transcutánea, tópica, intramuscular, intraarticular, subconjuntival, o mucosa, por ejemplo, oral intranasal o intraocular.

En otras realizaciones más la composición farmacéutica para su uso y los procedimientos de acuerdo con la invención se administran por una vía seleccionada de entre el grupo que consiste en intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, transcutánea, tópica, intraarticular, subconjuntival, oral, intranasal e intraocular.

Como se ejemplifica posteriormente, se demostró que el péptido denominado "**Nerofe**" en el presente documento inhibe directamente la motilidad celular en células de cáncer pancreático.

Por lo tanto, en otro de sus aspectos de la presente divulgación se desvela una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento de reducción de la motilidad de células cancerosas.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica como se define en el presente documento es para su uso en un procedimiento de reducción de la motilidad de las células cancerosas del cáncer de un paciente diagnosticado de cáncer con un potencial metastático.

Por la expresión "**reducción de la motilidad celular del cáncer**" quiere decir cualquier inhibición, atenuación o disminución parcial o completa de la capacidad de las células cancerosas para migrar desde su localización. La migración de las células del cáncer se puede monitorizar por cualquier procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, por el ensayo de migración celular ejemplificado posteriormente.

El término "**composición**" o "**composición farmacéutica**" como se define en el presente documento comprende generalmente un agente activo que es el péptido aislado de acuerdo con la invención y al menos un agente tampón, un agente que ajuste la osmolaridad del mismo, y opcionalmente, al menos un vehículo, excipiente y/o aditivo farmacéuticamente aceptable conocidos en la técnica.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede prepararse de acuerdo con técnicas convencionales bien conocidas en la industria farmacéutica. Dichas técnicas incluyen la etapa de asociar los principios activos con el vehículo, excipiente o aditivo farmacéuticamente aceptable.

Por ejemplo, la expresión "**vehículo farmacéuticamente aceptable**" como se utiliza en el presente documento incluye cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos como bien se conoce en la técnica. Cada vehículo debería ser aceptable tanto farmacéutica como fisiológicamente en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes y no perjudicial para el paciente.

El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales.

Los principios activos adicionales o suplementarios, por ejemplo, agentes anticáncer, se pueden incorporar también en la composición farmacéutica de la invención.

Debería entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones pueden incluir también otros agentes convencionales en la técnica que tienen relación con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración pueden ser agentes saborizantes.

Por lo tanto, en el ejemplo anterior y otros las composiciones farmacéuticas y composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la invención comprende adicionalmente al menos un vehículo, excipiente y/o aditivo farmacéuticamente aceptable.

En otro de sus aspectos de la presente divulgación se desvela un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer que comprende la administración a un paciente de cáncer que lo necesite de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado.

En algunos casos el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer de acuerdo con la divulgación es en el que dicho péptido aislado como se define en el presente documento comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

5 En otros casos el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer de acuerdo con la divulgación es en el que dicho péptido aislado consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

En casos adicionales el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer de acuerdo con la divulgación es en el que dicho péptido aislado consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3.

10 En más casos adicionales el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer es en el que dicho péptido aislado comprende una secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, en el que uno o más restos de aminoácidos se remplazan por una sustitución conservadora sin que afecte significativamente las características biológicas del péptido modificado en comparación con el péptido no modificado que tiene la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4, respectivamente.

15 En más casos adicionales el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer de acuerdo con la divulgación es en el que dicho péptido aislado comprende una secuencia de aminoácidos modificada de SEQ ID NO: 3, en la que uno o más restos de aminoácido se remplazan por el resto de aminoácido D correspondiente.

En algunos casos el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer es en el que dicho péptido aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

20 En algunas realizaciones la presente invención proporciona un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer que comprende la administración a un paciente de cáncer que lo necesite de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

25 En otras realizaciones el procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer de acuerdo con la invención es en el que dicho procedimiento comprende adicionalmente la administración a dicho paciente de cáncer al menos una terapia anticáncer adicional como se define en el presente documento.

30 También se desvela un procedimiento de reducción de la motilidad de células cancerosas que comprende la administración a un paciente de cáncer diagnosticado con un cáncer con un potencial metastático de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

35 En otro de sus aspectos de la presente divulgación se desvela un procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis en un paciente de cáncer que comprende la administración a un paciente de cáncer que lo necesite de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

40 En otro más de sus aspectos de la presente divulgación se desvela un procedimiento de disminución del nivel de VEGF en el suero de un paciente de cáncer que comprende la administración a dicho paciente de cáncer de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado.

45 En algunos ejemplos el procedimiento de reducción de la motilidad de las células cancerosas, el procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis o el procedimiento de disminución del nivel del VEGF en el suero de un paciente con cáncer que lo necesita de acuerdo con la presente divulgación es en el que dicha composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

50 En otros ejemplos el procedimiento de reducción de la motilidad de las células cancerosas, el procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis o el procedimiento de disminución del nivel del VEGF en el suero de un paciente con cáncer que lo necesita de acuerdo con la presente divulgación es en el que dicha composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

La "**cantidad terapéuticamente eficaz**" (o cantidades) del péptido aislado de acuerdo con la invención para los fines que se definen en el presente documento se determinan por consideraciones tales como las que se conocen en la técnica con el fin de tratar, prevenir, inhibir, detener o aliviar la metástasis del cáncer.

El péptido aislado de la composición farmacéutica que comprende el mismo de acuerdo con la invención se puede

administrar a un paciente que lo necesite en una dosis única o múltiples dosis en una cantidad terapéuticamente eficaz.

5 El régimen de dosificación y el calendario de dosificación de la administración del péptido aislado o la composición farmacéutica que comprende el mismo como se define en el presente documento puede determinarlos un experto basándose en las consideraciones conocidas en la técnica, por ejemplo, pero sin limitarse a, siguiendo el ensayo clínico que se resume en la Tabla 3 a continuación.

10 Los procedimientos de tratamiento y las composiciones farmacéuticas para su uso como se define en el presente documento tienen la intención de inhibir, ocultar o entretener la progresión de la metástasis del cáncer. La monitorización del efecto terapéutico del péptido aislado como se define en el presente documento (o la respuesta de un paciente de cáncer al tratamiento como se define en el presente documento) puede llevarse a cabo regularmente por el médico experto, por ejemplo, mediante una evaluación de todos los tumores y haciendo el seguimiento de su tamaño y metástasis o haciendo el seguimiento de los síntomas de metástasis del cáncer en un paciente de cáncer como se sabe en la técnica, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente.

15 Por ejemplo, la determinación de la respuesta de un paciente de cáncer al tratamiento que comprende en la administración de una composición farmacéutica para su uso como se define en el presente documento se puede llevar a cabo mediante el seguimiento de marcadores específicos de la metástasis del cáncer, por ejemplo, pero sin limitarse a al menos uno de entre el nivel de ST2 soluble, TPA o VEGF secretado a partir de una muestra biológica que contenga células obtenidas del paciente de cáncer antes de ser tratado por los procedimientos y composiciones farmacéuticas para su uso como se define en el presente documento y de una manera regular (por ejemplo, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes) después de haber sido tratado.

20 La expresión "**muestra biológica**" se utiliza en su sentido más amplio. Las muestras biológicas se pueden obtener de animales (incluyendo seres humanos) y engloban fluidos (por ejemplo, sangre), sólidos y tejidos.

25 En otro más de sus aspectos la presente invención proporciona el uso de un péptido aislado o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado como se define en el presente documento en la preparación de una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer.

En algunos ejemplos se desvela el uso de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados del péptido aislado en la preparación de una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer que comprende su administración a un paciente de cáncer que la necesite.

30 La presente invención proporciona adicionalmente el uso de un péptido aislado o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado como se define en el presente documento en la preparación de una composición farmacéutica para la reducción de la motilidad de las células del cáncer.

35 En ejemplos específicos se desvela el uso de un péptido aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4 o cualquiera de los fragmentos o derivados funcionales del péptido aislado para su uso en un procedimiento para la reducción de la motilidad de células cancerosas.

El término "**aproximadamente**" como se utiliza en el presente documento indica valores que se pueden desviar hasta un 1 %, más específicamente un 5 %, más específicamente un 10 %, más específicamente un 15 % y en algunos casos hasta un 20 % más o menos que el valor al que se refiere, el intervalo de desviación que incluye valores enteros, y, si es aplicable, también los valores no enteros que constituyen un intervalo continuo.

40 Se debe señalar que, como se utiliza en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares de "un", "una" y "el" incluyen los referentes en plural a menos de que el contenido dicte claramente otra cosa.

45 A lo largo de la presente memoria descriptiva y los Ejemplos y reivindicaciones que siguen, a menos de que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implica la inclusión del número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas, pero no la exclusión de otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Ejemplos

50 Sin una elaboración adicional, se cree que un experto en la técnica puede, utilizando la descripción precedente, utilizar la presente invención en su extensión más completa. Las siguientes realizaciones específicas preferidas se consideran, por lo tanto, simplemente ilustrativas, y no limitantes de ninguna manera de la invención reivindicada.

Los protocolos de biología molecular convencional que se conocen en la técnica y no se describen específicamente en el presente documento se siguen en general como en Sambrook & Russell, 2001.

Procedimientos experimentales**Cultivos celulares (pasaje celular)**

Las células (células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano y células de cáncer de mama humano) se cultivaron en una incubadora a 37 °C, con un 5 % de CO₂ hasta alcanzar un 70-80 % de densidad en el matraz. Al alcanzar el 70-80 % de densidad, las células se trataron de la siguiente manera: el medio de cultivo se desechó, y el matraz se lavó con tripsina EDTA (5 ml, Biological industries cat n° 03-052-1B). Se añadió entonces un volumen adicional de 5 ml de tripsina EDTA a las células y se colocaron las células en la incubadora durante unos minutos (5-10 minutos) a 37 °C, con un 5 % de CO₂ hasta que la mayoría de las células se despegaron del matraz. Se recomienda evitar dar golpecitos al matraz para aumentar el despegado de las células. Los matraces se adquirieron en Nunc (cat n° 178905).

Se añadió entonces medio RPMI (10 ml) a las células tratadas con tripsina. El medio se preparó suplementando el RPMI 1640 (que contiene L-Glutamina y 25 mM de HEPES, Renium cat n° 52400) con 50 ml de FBS (Biological industries cat n° 04-121-1A), 5 ml de piruvato sódico (Biological industries cat n° 03-042-1B), 5 ml de Pen-Strep (Biological industries cat n° 03-031-1B) y 5 ml de aminoácidos no esenciales (Biological industries cat n° 03-340-1B). El medio y las células tratadas con tripsina se dividieron entonces en 2 matraces y cada matraz se suplementó con 15 ml adicionales de medio reciente. Las células se cultivaron durante 2-3 días hasta alcanzar un 70-80 % de densidad celular. El procedimiento anterior se repitió entonces.

Preparación del péptido

Un péptido de 14 restos de aminoácido de longitud, en el que todos los restos de aminoácido tenían su configuración D, que tenía la secuencia de aminoácidos de Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu Trp Glu Arg Lys (o WWTFFLPSTLWERK con el código de una sola letra, como se indica por la SEQ ID NO: 4), al que también se denomina en el presente documento "Nerofe" se preparó y utilizó de la siguiente manera: el péptido se sintetizó por Novetide en condiciones de Buenas Prácticas de Fabricación (GMP) y se liofilizó en un polvo. El Nerofe en polvo se disolvió con dimetil sulfoxido (DMSO) de manera que se obtuviera una solución de Nerofe de 10 mg/ml o 20 mg/ml y entonces se diluyó adicionalmente con medio para obtener dos veces la concentración de ensayo deseada, mientras no excediera la concentración de un 2 % de DMSO total en la suspensión celular final. Las concentraciones finales de Nerofe utilizadas en los experimentos fueron 1, 10, 25 y 50 µg/ml. Se añadió una cantidad similar de DMSO a las células de control que no se incubaron en presencia de Nerofe.

Ensayo de incorporación de Bromodesoxiuridina (BrdU)

Las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano y células de cáncer de mama humano se cultivaron hasta alcanzar una densidad del 70-80 % en el matraz y se despegaron del matraz utilizando Tripsina EDTA como se ha descrito anteriormente (el protocolo anterior para el cultivo celular se utilizó hasta la etapa de adición de 10 ml de medio a las células tratadas con tripsina). Las células suspendidas en medio y tripsina se transfirieron entonces a un tubo cónico de 50 ml y se centrifugaron a 300 g (10 min, 4 °C). El sobrenadante se desechó entonces y el aglomerado de células se resuspendió en medio reciente (2 ml de medio preparado como se ha descrito anteriormente).

Las células se fluidificaron y se añadieron 3 ml de medio adicionales a la suspensión celular de manera que las células se resuspendieron en un volumen total de 5 ml de medio. Las células se contaron entonces y se diluyeron a una concentración de 20.000 células/ml de medio. A continuación, las células se colocaron en una placa de 96 pocillos (Nunc cat n°. 167008), colocando 100 µl de suspensión celular por pocillo, de manera que cada pocillo contenía 2000 células. Las células se incubaron entonces durante una noche a 37 °C en la incubadora.

Se suspendió el péptido Nerofe concentrado en un volumen total de 100 µl de medio y se añadió a las células de ensayo en la placa de 96 pocillos hasta una concentración final de 1, 10, 25 y 50 µg/ml. Los ensayos de control (fondo) se llevaron a cabo en ausencia de péptido, a saber, se añadieron 100 µl de medio a las células de control.

Las células se incubaron en presencia del péptido Nerofe durante 24 o 48 horas a 37 °C. Entonces se añadieron 20 µl de reactivo bromodesoxiuridina (BrdU) (Millipore cat n° 2752, diluido a 1:500 en medio) por pocillo, 24 horas antes de recolectar las células. A saber, se añadió BrdU inmediatamente antes de la incubación con el péptido o después de las primeras 24 horas de incubación en experimentos en los que las células se incubaron durante 48 horas. Se utilizó el kit BrdU (Cell Signaling Ltd.) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

Ensayo ELISA del activador del plasminógeno tipo tisular (TPA) humano

Las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano se cultivaron hasta que alcanzaron un 70-80 % de densidad en el matraz y se despegaron del matraz utilizando tripsina EDTA como se ha descrito anteriormente. Las células suspendidas en medio y tripsina se centrifugaron entonces y se resuspendieron en 2 ml de medio reciente (como se ha descrito para el ensayo de incorporación de BrdU, anteriormente).

Las células se fluidificaron y se añadieron 3 ml de medio a la suspensión celular de manera que las células se resuspendieron en un volumen total de 5 ml de medio. Las células se contaron y se diluyeron a una concentración de 50.000 células/ml de medio. A continuación, las células se colocaron en cada pocillo de una placa de 6 pocillos

(Nunc cat n°. 140675), colocando 2 ml de cultivo celular por pocillo, de manera que cada pocillo contenía 100.000 células. Las células se incubaron a continuación durante una noche a 37 °C en la incubadora.

5 El sobrenadante se desechó y se reemplazó por 1 ml de medio RPMI que contenía un 2,5 % de FBS. Las células se incubaron entonces durante 24 horas o 48 horas a 37 °C en presencia de péptido Nerofe a concentraciones finales de 1, 10, 25 y 50 µg/ml. El sobrenadante se recolectó por centrifugación de las células (5 minutos a 300 g, 4 °C) y se almacenó a -20 °C.

10 A continuación, se llevó a cabo un ensayo ELISA de TPA de la siguiente manera: el sobrenadante se descongeló y se mantuvo en hielo, entonces se diluyó 1:15 con los diluyentes TPA proporcionados en el kit (x1 N, Abcam cat n° ab108914). El procedimiento continuó de acuerdo con el protocolo del fabricante y las placas de ELISA se leyeron a una densidad óptica (D.O.) de 450/590.

Ensayo ELISA de ST2 soluble (sST2)

15 Las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano y células de cáncer de mama humano (MDA-MB-231) se cultivaron hasta que alcanzaron un 70-80 % de densidad en el matraz y se despegaron del matraz utilizando tripsina EDTA como se ha descrito anteriormente. Las células suspendidas en medio y tripsina se centrifugaron entonces y se resuspendieron en 2 ml de medio reciente (como se ha descrito para el ensayo de incorporación de BrdU, anteriormente).

20 Las células se fluidificaron y se añadieron 3 ml de medio a la suspensión celular de manera que las células se resuspendieron en un volumen total de 5 ml de medio. Las células se contaron entonces y se diluyeron a una concentración de 50.000 células/ml de medio. Las células a 2 ml por placa se colocaron en cada pocillo de una placa de 6 pocillos de manera que cada pocillo contenía 100.000 células. Las células se incubaron durante una noche a 37 °C en la incubadora.

25 El sobrenadante se desechó y se reemplazó por 1 ml de medio RPMI que contenía un 2,5 % de FBS. Las células se incubaron entonces durante 24 o 48 horas a 37 °C en presencia de péptido Nerofe a concentraciones finales de 1, 10, 25 y 50 µg/ml. El sobrenadante se recolectó por centrifugación de las células (5 minutos a 300 g, 4 °C) y se almacenó a -20 °C.

30 A continuación, se llevó a cabo el ensayo ELISA sST2 de la siguiente manera: primero, se preparó una curva de calibración para el péptido sST2 mediante diluciones seriadas del péptido sST2 (Genmed, project ID 35622 B-Form, secuencia: HTVRLSRKNPSKECF) en PBS (Biological industries, 02-023-5A) desde 10.000 pg/ml a 156 pg/ml. Entonces se descongelaron las muestras de sobrenadante y se mantuvieron sobre hielo (las muestras concentradas se diluyeron en PBS). La carga de las muestras se llevó a cabo cargando duplicados de 100 µl de cada muestra y de la referencia en una placa de 96 pocillos Maxisorp (NUNC, F96 Maxisorp, 442404). Las placas cargadas se incubaron a 4 °C durante una noche con un suave agitado orbital.

35 Las muestras se lavaron entonces retirando el líquido y lavando la placa 3 veces utilizando una multi-pipeta o una lavadora automática con 300 µl de TW-20 al 0,05 % (Amresco, 0777-1L) en PBS. Las muestras se bloquearon diluyendo un 5 % de BSA (MP biomedical, 160069) en PBS y cargando 300 µl del tampón de bloqueo en cada pocillo. La etapa de bloqueo incluía un periodo de incubación de 1 hora con agitado (350 RPM) a temperatura ambiente (TA). A continuación, se lavaron las muestras como se ha descrito anteriormente.

40 La detección de sST2 se llevó a cabo mediante el anticuerpo purificado anti-sST2 Affinity (Genmed, project ID 35622 B-Form) diluido 1:100 en diluyente (un 0,05 % de TW-20, un 0,1 % de BSA en PBS), al cargarse 100 µl de anticuerpo de detección en cada pocillo. Las muestras se incubaron entonces durante 1,5 horas a TA con agitado (350 RPM) y se lavaron como se ha descrito anteriormente. El anticuerpo de cabra anti-conejo conjugado con HRP diluido (1:500 en diluyente) (Cell signaling, 7074) se cargó entonces en cada pocillo (100 µl) y las muestras se incubaron adicionalmente 30 minutos a TA con agitado. Las muestras se lavaron entonces como se ha descrito anteriormente y se desarrollaron añadiendo 10 µl de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB, Milipore, ES001-500ML) a cada pocillo, esperando el desarrollo del color azul y añadiendo finalmente 100 µl de H₂SO₄ 2 N (Futarom, 5552540). Se llevó a cabo la absorbancia de la placa en un lector de microplacas a una DO de 450/590 nm.

Ensayo de migración celular de células cancerosas humanas

50 Las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano se cultivaron hasta que alcanzaron un 70-80 % de densidad en el matraz y se despegaron del matraz utilizando tripsina EDTA como se ha descrito anteriormente. Las células suspendidas en medio y tripsina se centrifugaron entonces 10 minutos a 300 g (4 °C) y se resuspendieron en 2 ml de medio reciente (como se ha descrito para el ensayo de incorporación de BrdU, anteriormente).

Las células se fluidificaron y se añadieron 3 ml de medio de manera que las células se suspendieron en un volumen de 5 ml de medio y posteriormente se contaron y se diluyeron a una concentración de 150.000 o 300.000 células/ml de medio.

55 De manera alternativa, se utilizó un medio de Eagle con la modificación de Dulbecco (DMEM, Biological Industries

cat nº 01-055-1A) suplementado con 50 ml de FBS (Biological industries cat nº 04-121-1A), 5 ml de Hepes 1M (Biological industries cat nº 03-025-1C), 0,5 ml de Anfotericina B 2500 mg/ml (Biological industries cat nº 03-029-1) y 5 ml de sulfato de gentamicina 50 mg/ml (Biological industries cat nº 03-035-1) para el cultivo de las células y la resuspensión, y las células se resuspendieron a una concentración final de 100.000 células/ml de medio.

- 5 Se preparó una placa de Ensayo de Migración Celular radius de 96 pocillos (Cell Biolabs Inc. cat nº CBA-126) de acuerdo con el protocolo del fabricante y se cargó cada pocillo con 100 µl de células de manera que cada pocillo contenía 10.000, 15.000 o 30.000 células. Las células se incubaron durante una noche en la incubadora (a 37 °C). A continuación, el sobrenadante se desechó y se reemplazó por 100 ml de RPMI que contenía un 2,5 % de FBS. Las células se trataron entonces con el péptido Nerofe suspendido en un volumen total de 100 µl de medio (a concentraciones finales de 1 y 10 µg/ml), de manera que cada pocillo contenía un volumen total de 200 µl. Las células se incubaron entonces a 37 °C durante 24 horas en una incubadora.

De manera alternativa, el sobrenadante se desechó y se reemplazó con 200 µl de DMEM que contenía un 2,5 % de FBS y el tratamiento necesario, a saber, el control (sin el Nerofe), 10, 25 o 50 µg/ml de Nerofe. Las células se incubaron entonces a 37 °C durante 48 horas en una incubadora.

- 15 Cuando las células alcanzaron un 70-80 % de densidad, se desechó el sobrenadante y se retiró el gel del centro del pocillo sin afectar la adherencia de las células como se describen en el protocolo del fabricante. Entonces, el área que estaba libre de células se fotografió, utilizando un microscopio confocal invertido (con una magnificación de x40) en el tiempo cero (es decir, justo después de retirar el gel) y luego cada dos horas. El ensayo se concluyó tiñendo las células de acuerdo con el protocolo del fabricante.
- 20 Se utilizó el software Photoshop para calcular el área que estaba vacía de células en cada momento con el fin de determinar la velocidad con la que las células estaban avanzando en el área vacía. Todos los experimentos se llevaron a cabo por duplicado.

Ejemplo 1 Efecto del péptido Nerofe sobre los niveles de Activador del Plasminógeno tipo tisular (TPA) en células cancerosas pancreáticas humanas

- 25 Se ha publicado que la sobre expresión del activador del plasminógeno tisular (TPA) en las células cancerosas pancreáticas promueve la invasión y proliferación *in vitro* y el crecimiento tumoral y la angiogénesis *in vivo* (7).

Se examinó el efecto del péptido Nerofe, que tiene toda la secuencia de aminoácidos D de Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu Trp Glu Arg Lys (como se indica por SEQ ID NO: 4) sobre la secreción de TPA por las células cancerosas pancreáticas *in vitro*. La Figura 1 (gráfico de barras inferior) muestra las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano que se incubaron en presencia de 1-50 µg/ml de péptido Nerofe durante 24 horas y luego se evaluó en cuanto a niveles de TPA por un ensayo ELISA, como se ha descrito anteriormente.

- 30 Como se demuestra en la Figura 1 (gráfico de barras inferior), en presencia del péptido Nerofe, se detectaban niveles inferiores de TPA secretado en las células ensayadas (también denominadas en el presente documento "células de la línea 1", "células de la línea 2" y "células de la línea 3") en comparación con las células de control que no se incubaron con el péptido.

Como se ha indicado anteriormente, la sobre expresión de TPA en las células cancerosas pancreáticas promueve la invasión celular. En consecuencia, una reducción de los niveles de TPA pueden afectar la invasión o el potencial metastático de las células cancerosas, y, por lo tanto, la reducción de los niveles de TPA demostrada en presencia del péptido indica que el péptido puede ser eficaz en la reducción de la motilidad celular.

- 40 **Ejemplo 2 Efecto del péptido Nerofe sobre los niveles del ST2 soluble en células cancerosas pancreáticas humanas**

El receptor T1/ST2 (al que se hace referencia también como receptor tipo 1 de interleucina 1) es un miembro de la superfamilia de receptores tipo Toll. Tanto los receptores T1/ST2 solubles y unidos a la membrana se expresan predominantemente en los tejidos hematopoyéticos *in vivo* (8). Se ha informado recientemente que la inactivación de la forma soluble de ST2 (sST2) disminuía la motilidad celular inducida por ErbB2 en distintas líneas celulares (9).

- 45 Como se demuestra en la Figura 2 (gráfico de barras inferior), en presencia de 1-50 µg/ml de péptido Nerofe, se detectaban menores niveles de sST2 en todas las células ensayadas (células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano) en comparación con el nivel de sST2 en las células que no se incubaban con el péptido. El efecto observado del péptido Nerofe era dependiente de la dosis. Como el sST2 se asocia con la motilidad celular, la reducción demostrada de los niveles de sST2 en presencia del péptido indica que el péptido puede ser eficaz en la reducción de la motilidad celular o la invasión.

También se demostró una disminución de aproximadamente un 80 % en el nivel de sST2 en células de cáncer de mama humano (MDA-MB-231) en presencia de péptido Nerofe en condiciones de ensayo similares (datos no mostrados).

Ejemplo 3 Efecto del péptido Nerofe sobre la proliferación de células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano

Los inventores habían demostrado anteriormente que un péptido que consiste en los 51 restos de aminoácido del extremo C del péptido del timo (denominado "péptido T101" como se indica en la Tabla 1 anterior), que tiene la secuencia de aminoácidos indicada por SEQ ID NO: 2, reducía significativamente el tamaño tumoral en un modelo de ratones Balb/C adultos (3).

Además, el péptido Nerofe, que es un fragmento peptídico modificado del péptido T101, que consiste en los 14 restos de aminoácido del extremo C del mismo con todos los restos de aminoácido D (indicado por SEQ ID NO: 4) se demostró previamente que inhibía la proliferación celular en distintas células cancerosas de origen hematopoyético. Un "efecto inhibidor de la proliferación celular" se define en el presente documento como al menos un 40 % de inhibición de la proliferación celular en presencia del péptido en comparación con un ensayo de control llevado a cabo en ausencia del péptido.

Sorprendentemente, los inventores presentan ahora que se ha demostrado que el péptido Nerofe solo tienen un efecto menor sobre las células cancerosas del adenocarcinoma pancreático humano, como se muestra en los paneles superiores de la Figura 1 y la Figura 2.

La proliferación de células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano se ensayó utilizando un ensayo de incorporación de bromodesoxiuridina (BrdU), para evaluar la cantidad de células que están sintetizando ADN, como se ha descrito anteriormente. Como se muestra en la Figura 1 y en la Figura 2 (líneas superiores), las células cancerosas pancreáticas humanas incubadas en presencia de 1, 10, 25 y 50 µg/ml del péptido Nerofe solo presentaban una reducción modesta (hasta un 26 % de inhibición) en su capacidad de incorporación de BrdU en presencia del péptido en comparación con el ensayo de control llevado a cabo en ausencia del péptido. Además, no se encontró ninguna correlación entre la concentración de péptido Nerofe y la extensión de la inhibición.

Ejemplo 4 Efecto del péptido Nerofe sobre la migración celular en las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano

El efecto del péptido Nerofe sobre la migración celular se ensayó directamente utilizando el ensayo Radius de Migración celular, de acuerdo con el protocolo del fabricante. En resumen, se sembraron las células en el pocillo de una placa Radius de 96 pocillos (Cell Biolabs Inc. cat n° CBA-126) y se adhirieron en cualquier sitio excepto en el centro del pocillo donde se coloca un punto de hidrogel biocompatible. Una vez que se forma una monocapa, se inicia el ensayo disolviendo suavemente el gel con una solución de retirada, dejando un hueco a través del cual puede producirse la migración celular.

Como se muestra en la Tabla 2 a continuación, cuando las células se incubaron en presencia del péptido Nerofe durante 8 horas (a una concentración final de 10 µg/ml), la migración de las células hacia el centro del pocillo se redujo un 30 % para las células de la línea 1, y un 82 % para las células de la línea 2 en comparación con las células de control (que no se habían incubado con el péptido). La línea celular "1" y la línea celular "2" son ambas de células cancerosas de adenocarcinoma pancreático.

Estos resultados son una prueba directa del efecto del péptido Nerofe sobre el potencial migratorio de las células cancerosas.

Tabla 2 Efecto del péptido Nerofe sobre la migración celular

Línea celular	Tratamiento con Nerofe (10 µg/ml)	% Migración tras 8 horas	% Inhibición de migración
1	-	100	
1	+	70	30
2	-	100	
2	+	18	82

El efecto del péptido Nerofe sobre la capacidad migratoria de las células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano se ensayaron adicionalmente en diferentes condiciones de ensayo, a saber, sometiendo las células a un periodo de incubación de 48 horas antes de iniciar el ensayo, en presencia de 0, 10, 25 y 50 µg/ml de péptido Nerofe.

Los resultados de un ensayo que se llevó a cabo incubando células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano en presencia de 25 µg/ml de péptido Nerofe como se presenta en la Figura 3. Como es evidente comparando la Figura 3C, obtenida 27 horas después de iniciarse el ensayo de migración, con la Figura 3A, obtenida 1 hora después de iniciarse el ensayo de migración, las células de control que no se trataron con el péptido

Nerofe migraron al centro de la placa.

Por el contrario, como se demuestra comparando la Figura 3D con la Figura 3B, la migración de las células que se incubaron en presencia del péptido Nerofe se inhibió sustancialmente.

5 Este efecto inhibitor también se presente gráficamente en la Figura 4 que muestra los resultados obtenidos en dos ensayos de migración independientes llevados a cabo con células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano que se incubaron en presencia de 25 µg/ml de péptido Nerofe (T1 y T2) durante 48 horas antes de iniciar el ensayo de migración y los resultados obtenidos por cuatro ensayos independientes llevados a cabo con las células de control (CON1, CON2, CON3 y CON4).

10 Como se muestra gráficamente en la Figura 4, el área libre de células en un ensayo de migración llevado a cabo con células expuestas previamente al péptido Nerofe se mantiene sustancialmente durante el ensayo de migración, sugiriendo que la migración de estas células estaba muy inhibida.

La reducción observada en el nivel de TPA y sST2 secretados en presencia del péptido Nerofe, junto con el efecto inhibitor directo del Nerofe sobre la migración de células cancerosas sugiere un potencial terapéutico de este péptido en la inhibición de la metástasis del cáncer.

15 Sin el deseo de quedar ligados por teoría alguna, estos efectos observados del péptido Nerofe no se asocian necesariamente con la maquinaria de proliferación celular, ya que el Nerofe solo presentaba un mínimo efecto inhibitor sobre la proliferación celular, como se ejemplifica en la Figura 1 y la Figura 2.

Ejemplo 5 Efecto del péptido Nerofe sobre el nivel del factor de crecimiento endotelial vascular en pacientes de cáncer

20 El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una proteína de señal producida por las células que estimula la vasculogénesis y angiogénesis. Como se ha indicado anteriormente, los cánceres que pueden expresar el VEGF son capaces de crecer y metastatizar.

25 Por lo tanto, se llevó a cabo un estudio clínico que hace el seguimiento de los niveles en el suero de VEGF en pacientes con cáncer a los que se administró el péptido Nerofe. Los pacientes participantes en el estudio se diagnosticaron con distintos tipos de cáncer, a saber, de colon, colorrectal, neoplasia de células fusiformes, páncreas, intestino delgado, carcinoma pulmonar de células no pequeñas, carcinoma hepático, adenocarcinoma de colon y adenocarcinoma rectal, como se resume en la Tabla 3 a continuación.

30 Los pacientes se incluyeron en al menos una de las Cohorte 1, Cohorte 2, Cohorte 3 y Cohorte 4 y recibieron dosis de 6, 12, 24 o 24 mg/m² (aproximadamente 0,16, 0,32, 0,64 o 1,28 mg/kg de peso corporal) de péptido Nerofe, respectivamente, en los momentos indicados.

Los niveles de VEGF en el suero se midieron en las muestras de sangre obtenidas de estos pacientes utilizando un kit Elisa para el VEGF humano (R&D Systems) y los resultados se presentan en la Figura 5 (para los pacientes de la Cohorte 1 y Cohorte 2) y en la Figura 6 (para los pacientes de la Cohorte 3 y la Cohorte 4).

35 Como se demuestra en la Figura 5, en la Cohorte 1 y la Cohorte 2 había un aumento del nivel de VEGF en el suero de los pacientes de cáncer participantes. Sin embargo, como se muestra en la Figura 6, los niveles de VEGF en el suero disminuían un 30-40 % en el suero de los pacientes de la Cohorte 3 y Cohorte 4, demostrando un claro efecto anti angiogénico del Nerofe en los pacientes con cáncer.

Este efecto observado era particularmente significativo en los pacientes de cáncer que tenían cánceres de adenocarcinoma de intestino delgado y rectal, a saber, los pacientes 13 y 19, respectivamente.

Tabla 3 Sumario de un estudio clínico con Nerofe

Paciente	Día	Cohorte	Dosis de Nerofe	Tipo de cáncer
002	1, 15, 29	1	6 mg/m ²	Colon
004	1, 15	1	6 mg/m ²	Colon
005	1, 15, 29, 116 145, 174, 189,217	1 2	6 mg/m ² 12 mg/m ²	Colorrectal
006	1, 15, 29, 58, 77, 87, 116 145, 174, 203, 238	2 3	12 mg/m ² 24 mg/m ²	Neoplasia de células fusiformes
007	1, 15, 24	2	12 mg/m ²	Colon

40

(continuación)

Paciente	Día	Cohorte	Dosis de Nerofe	Tipo de cáncer
011	1, 15, 29, 58, 77, 101	2	12 mg/m ²	Colon
012	1, 15, 44, 58, 66	3	24 mg/m ²	Páncreas
013	1, 15, 29, 55	3	24 mg/m ²	Intestino delgado
015	1, 15, 29, 44, 58	3	24 mg/m ²	Carcinoma pulmonar de células no pequeñas
016	1, 15, 29, 44	4	48 mg/m ²	Carcinoma hepático
017	1, 15, 29, 44, 55	4	48 mg/m ²	Adenocarcinoma de colon
019	1, 15, 29	4	48 mg/m ²	Adenocarcinoma rectal

Como la metástasis y la migración de células tumorales se produce a través de los vasos sanguíneos, al disminuir los niveles del VEGF, los vasos sanguíneos son menos permeables y se puede inhibir la metástasis.

5 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Immune System Key Ltd.

<120> COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y PROCEDIMIENTOS PARA EL TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN DEL CÁNCER METASTÁTICO

<130> 2318215

10 <150> US 61/912,156

<151> 2013-12-05

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

15 <210> 1

<211> 84

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Met Ala Leu Arg Ser Gln Gly Leu Met Leu Pro Gln Ser Cys Pro
1 5 10 15

Gln Leu Ala Phe Leu Thr Leu Ser Ala Leu Ala Ala Val Ser Phe Ser
20 25 30

Ala Leu His Leu Trp Leu Ser Gly Glu Pro Val Gln Ser Ser Gly Thr
35 40 45

Lys Asp Met Arg Ser Lys Ser Asp Ser Lys Arg Val Ser Asp Lys Gln
50 55 60

Leu Ile Ser Lys Ala Val Trp Trp Thr Phe Phe Leu Pro Ser Thr Leu
65 70 75 80

Trp Glu Arg Lys

20 <210> 2

<223> Xaa es igual a D-Phe
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 5 <223> Xaa es igual a D-Leu
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa es igual a D-Pro
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa es igual a D-Ser
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa es igual a D-Thr
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa es igual a D-Leu
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa es igual a D-Trp
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa es igual a D-Glu
 35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa es igual a D-Arg
 40 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa es igual a D-Lys
 <400> 4

Xaa
 1 5 10

40

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o en cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en la que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4, para su uso en un procedimiento de prevención o tratamiento de la metástasis del cáncer, en el que dicho cáncer es un cáncer metastático.
2. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho péptido aislado consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.
- 10 3. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho cáncer metastático se selecciona del grupo que consiste en cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer colorrectal, adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma rectal, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer renal, mieloma múltiple, cáncer tiroideo, cáncer de próstata, adenocarcinoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer gastrointestinal, cáncer de estómago, cáncer de intestino delgado, neoplasia de células fusiformes, carcinoma hepático, cáncer de hígado y enfermedades malignas del tracto genital femenino.
- 15 4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho procedimiento comprende adicionalmente la administración de al menos una terapia anticáncer adicional.
5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicha al menos una terapia adicional del cáncer se selecciona del grupo que consiste en un agente anti-angiogénico, un agente citotóxico, un agente quimioterápico, terapia hormonal, radioterapia e inmunoterapia.
- 20 6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha composición farmacéutica se administra por una vía seleccionada del grupo que consiste en intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, transcutánea, tópica, intraarticular, subconjuntival, oral, intranasal e intraocular.
- 25 7. Una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o en cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en la que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4, para su uso en un procedimiento de reducción de la motilidad de células cancerosas en un paciente con cáncer.
- 30 8. Una composición farmacéutica que comprende un péptido aislado que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o en cualquiera de los fragmentos funcionales del péptido aislado, en la que dichos fragmentos funcionales tienen al menos un 70 % de identidad con la SEQ ID NO: 4, para su uso en un procedimiento de prevención o inhibición de la angiogénesis en un paciente con cáncer.
9. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en la que dicho péptido aislado consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4.

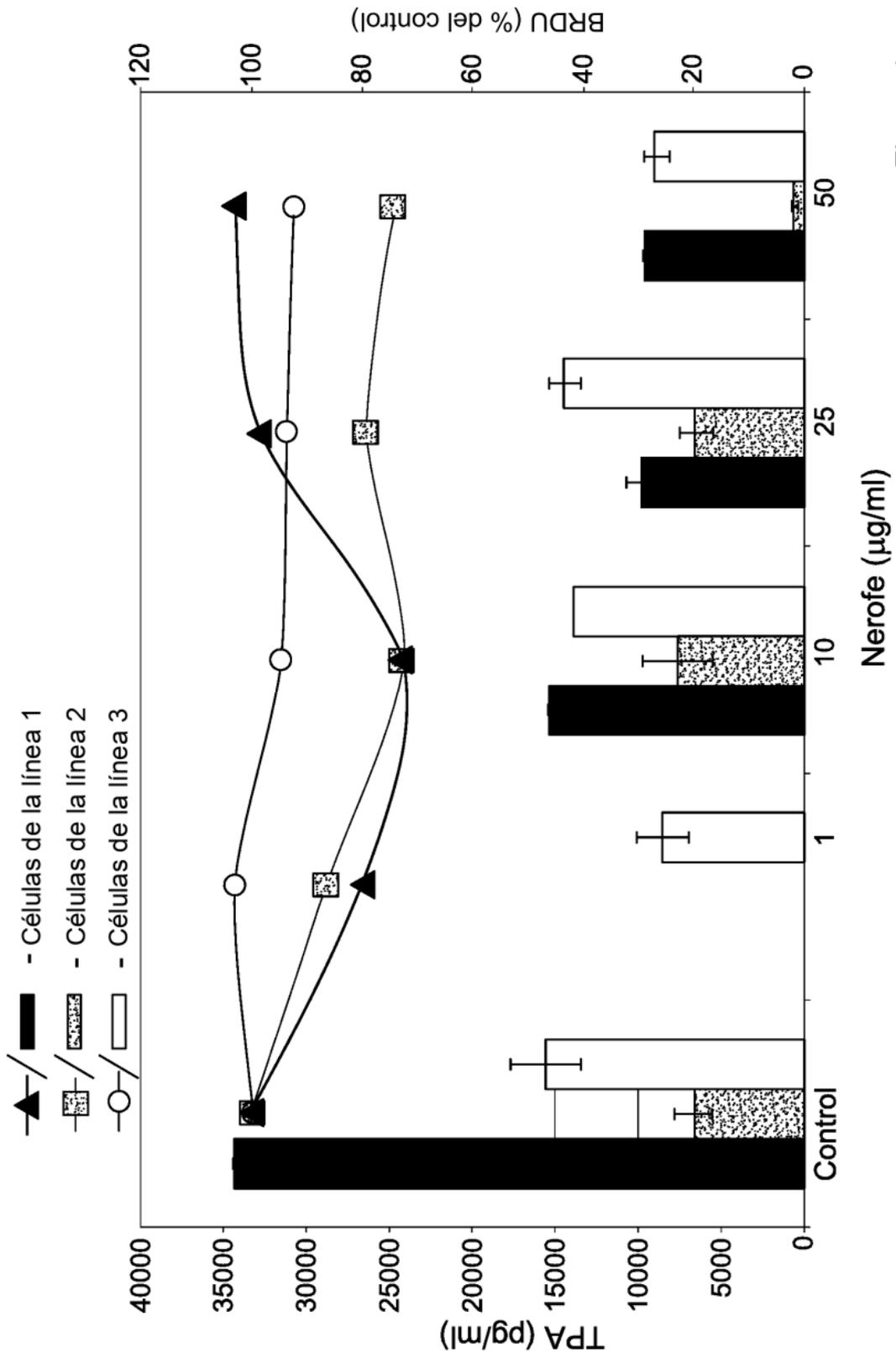


Figura 1

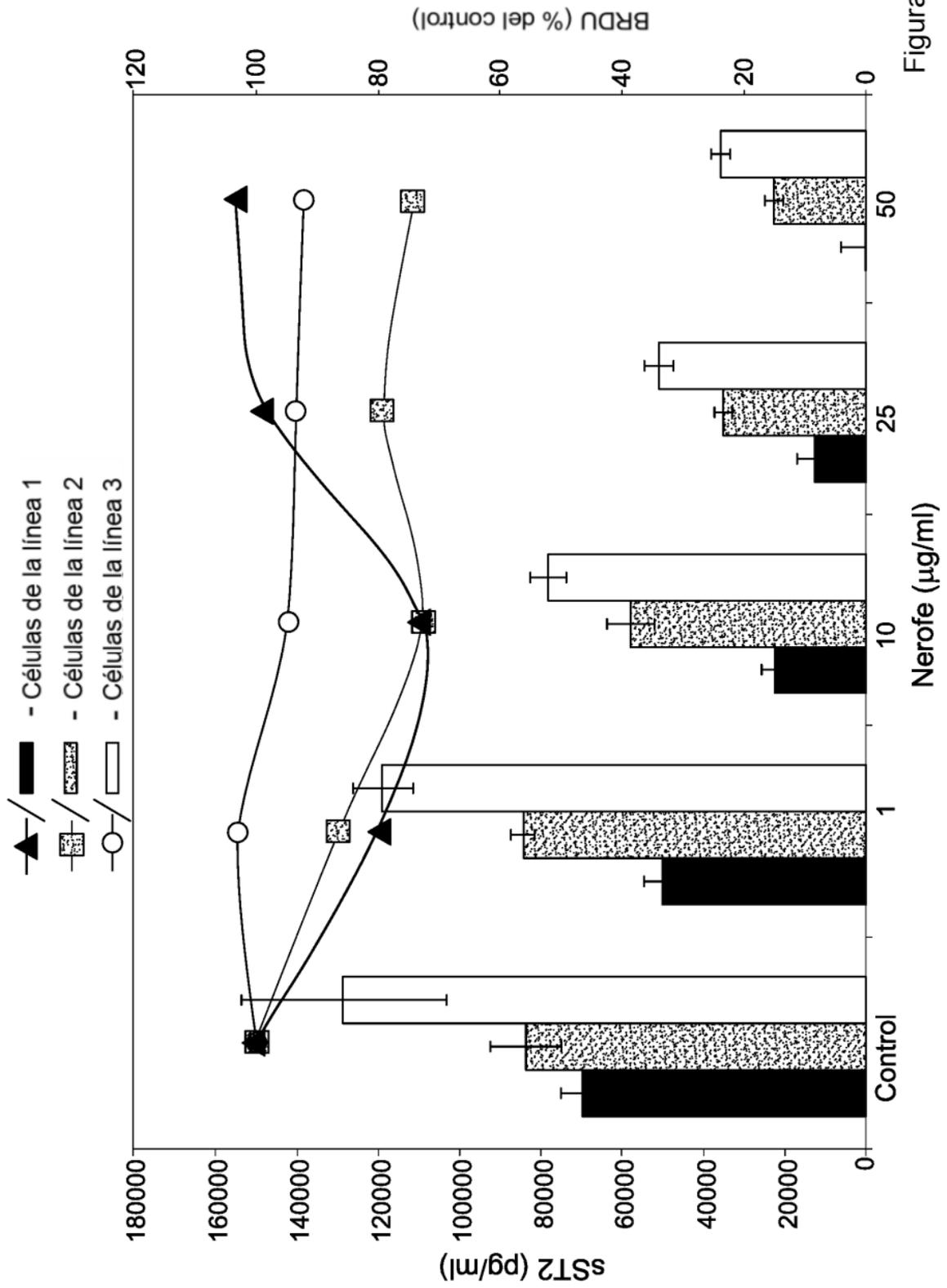


Figura 2

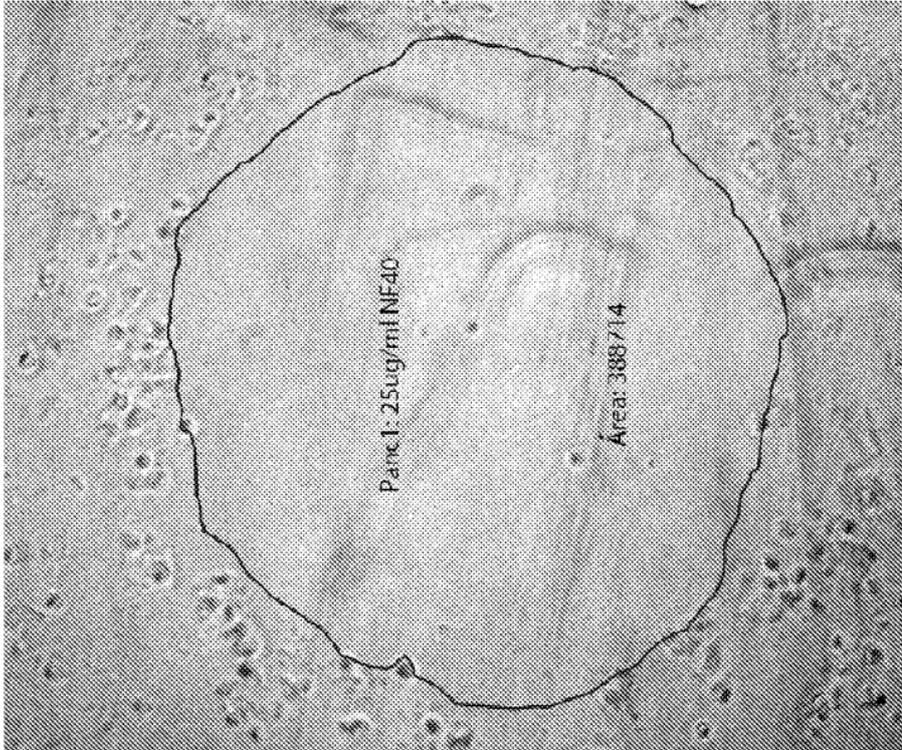


Figura 3B

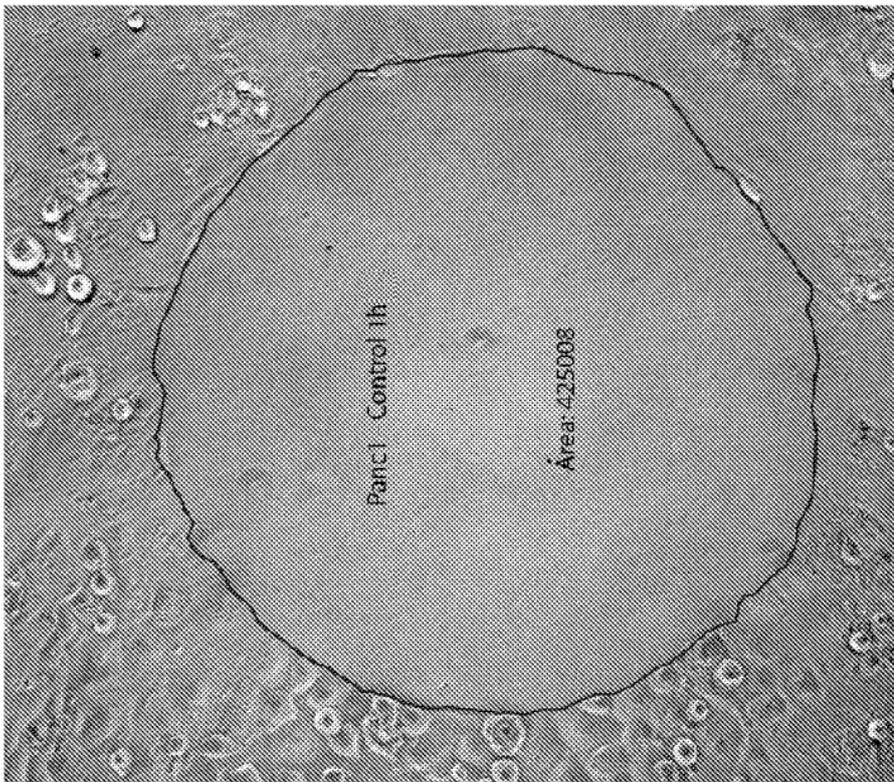


Figura 3A

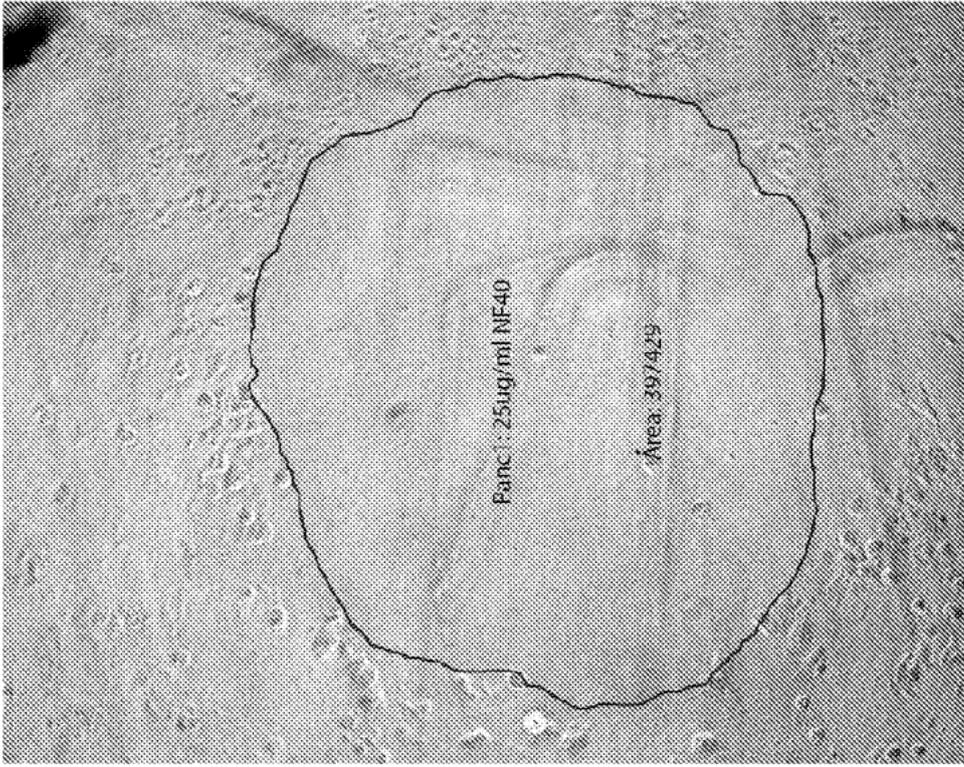


Figura 3D

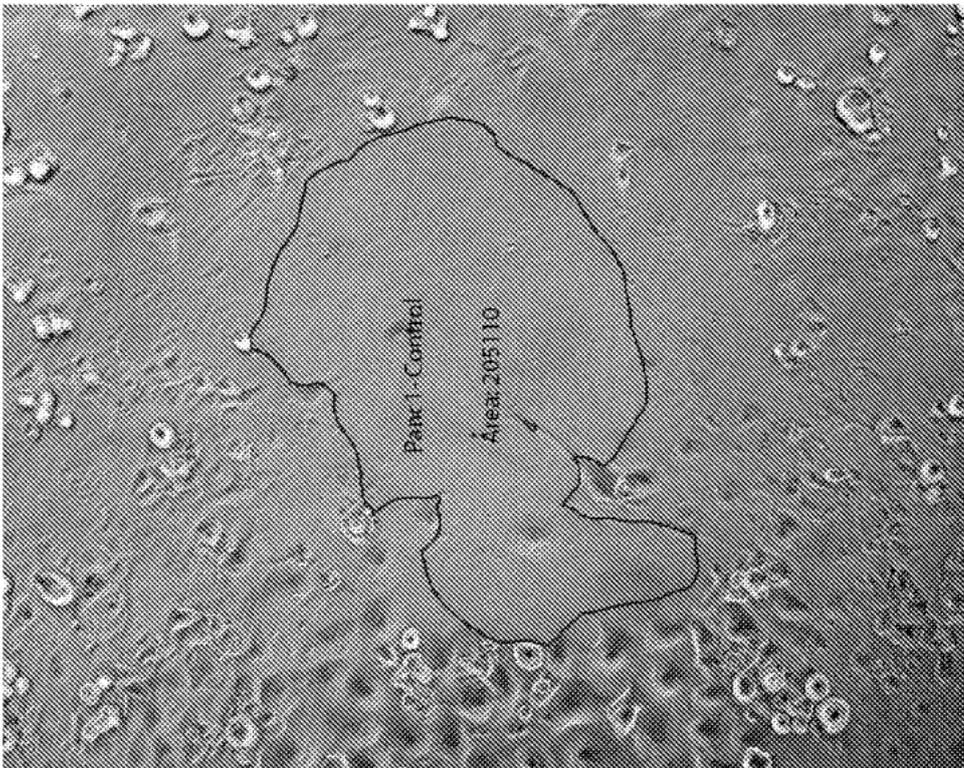


Figura 3C

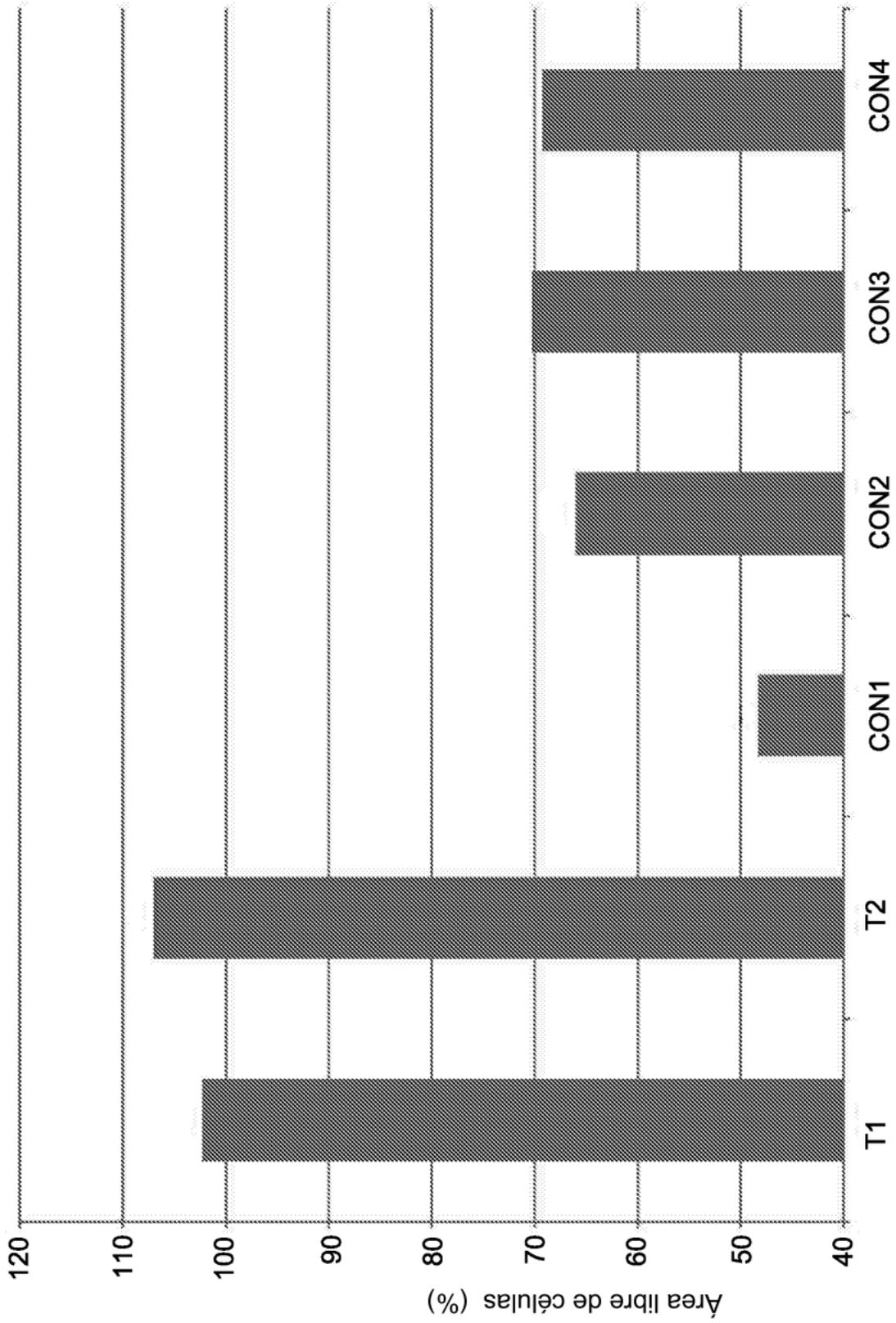


Figura 4

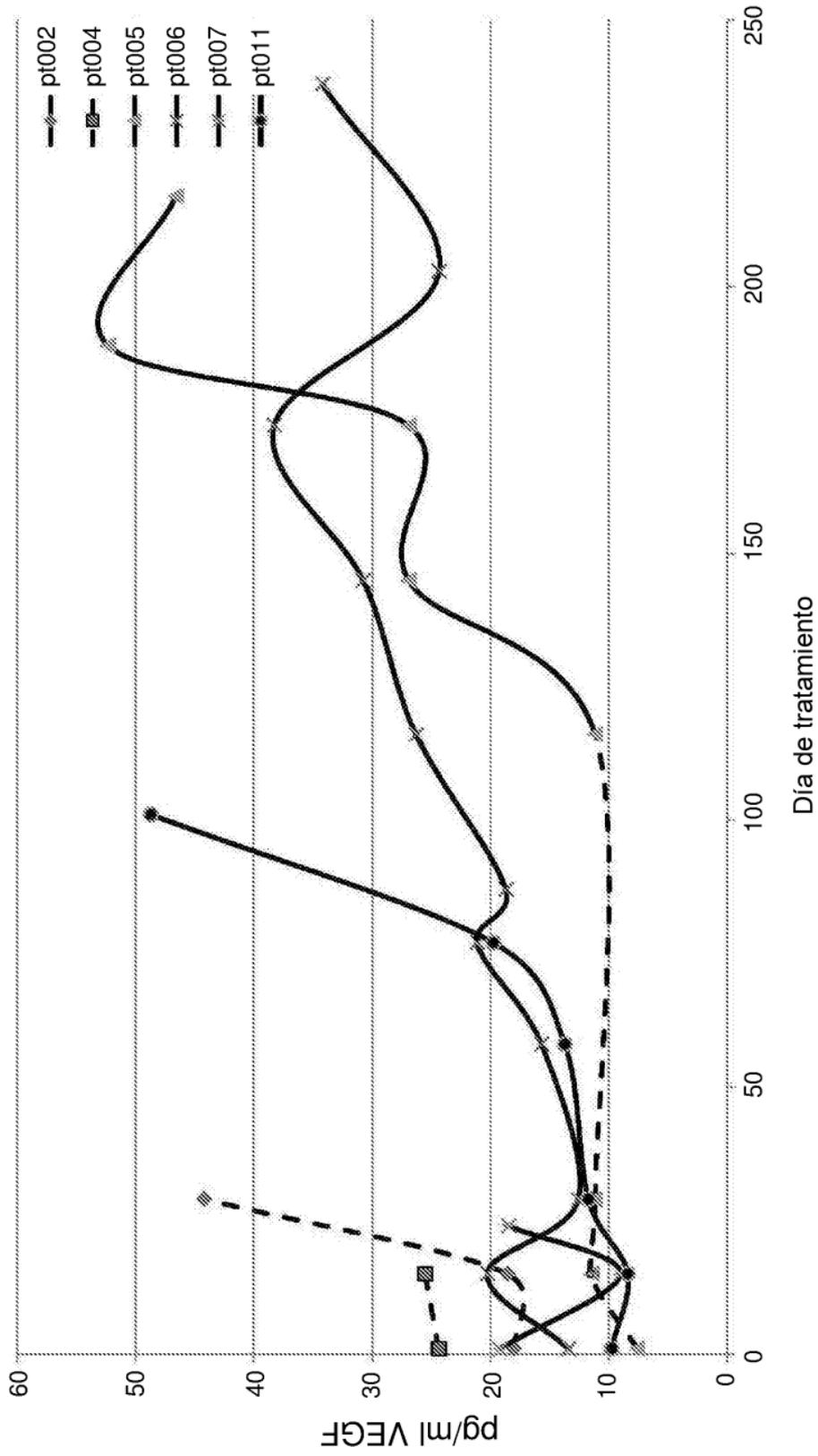


Figura 5

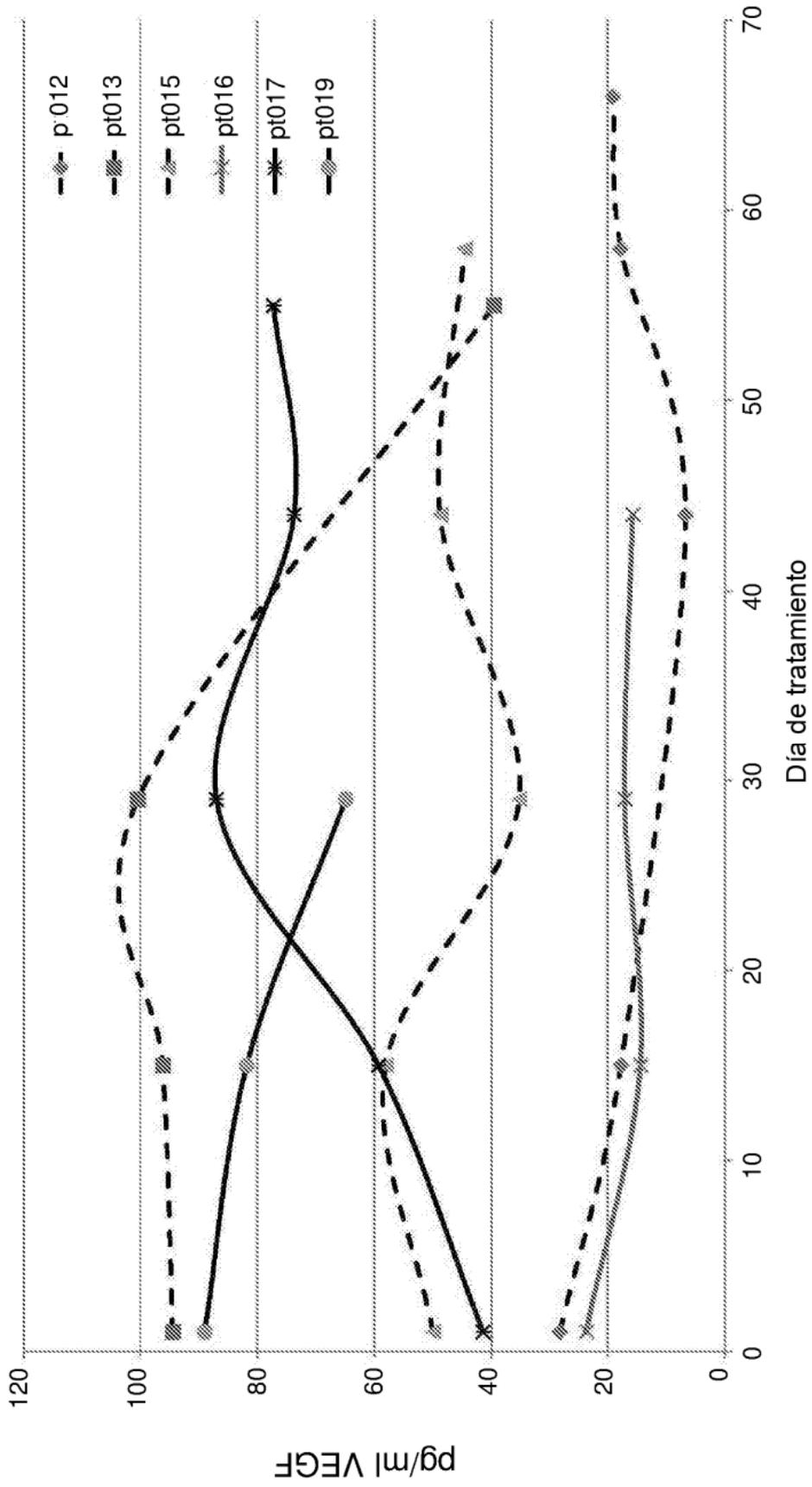


Figura 6