(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 775 740**

(51) Int. CI.:

A61K 38/00 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.10.2016 PCT/GB2016/053282**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.04.2017 WO17068353**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2016 E 16801003 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3364992**

(54) Título: **Péptidos**

(30) Prioridad:

21.10.2015 GB 201518700

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.07.2020

(73) Titular/es:

HOX THERAPEUTICS LIMITED (100.0%)
The Lane House Skinners Lane
AshteadSurrey KT21 2NP, GB

(72) Inventor/es:

MORGAN, RICHARD

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

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

DESCRIPCIÓN

Péptidos

La presente invención se refiere a nuevos péptidos que deterioran la regulación de la transcripción dependiente de PBX, particularmente que afectan la unión de HOX a PBX y su uso en una serie de aplicaciones, incluida la reducción de la división celular aberrante, proteínas HOX homeóticas para tratar ciertos tipos de cáncer y para mantener la pluripotencia de las células madre, por ejemplo para mantener la pluripotencia de las células madre durante la expansión del cultivo.

Una variedad de factores de transcripción están implicados en la regulación de la expresión de proteínas durante la embriogénesis y la maduración de células madre adultas. Los genes Homeobox (HOX) contienen una secuencia de nucleótidos altamente conservada de aproximadamente 180 pb que codifica un homeodominio de aproximadamente 60 aminoácidos. Un homeodominio es un dominio de proteína de unión a ADN que puede unirse a secuencias objetivo en otros genes y regular su expresión durante el desarrollo. Los genes Hox agrupados son reguladores clave del desarrollo y están altamente conservados a lo largo de la evolución. Las proteínas HOX homeóticas que codifican una función como factores de transcripción para controlar el patrón axial regulando la transcripción de genes subordinados secuencia abajo, por ejemplo, genes del desarrollo. El gen relacionado con la transformación de células pre-B (PBX) también es una proteína reguladora importante que controla la expresión génica durante el desarrollo al interactuar cooperativamente con HOX para unirse al ADN objetivo (Mann et al., 1996, Trends Genet., 12 (7), páginas 258-262).

Se sabe que al inhibir la unión de PBX a sus compañeros de unión, el crecimiento celular aberrante puede reducirse para prevenir o tratar trastornos o afecciones en las que se produce dicho crecimiento celular. Se ha descubierto que dicha inhibición tiene efectos profundos y útiles sobre las células madre, lo que permite mantener la pluripotencia de estas células. Estos hallazgos ofrecen aplicaciones clínicas significativas en las que las células deseadas pueden protegerse y posiblemente expandirse mientras que se puede prevenir el crecimiento de células perjudiciales (Morgan, R., Pirard, PM, Shears, L., Sohal, J., Pettengell, R. & Pandha, HS (2007) Antagonism of HOX/PBX dimer formation blocks the in vivo proliferation of melanoma. Cancer Res, 67, 5806-5813; Shears, L., Plowright, L., Harrington, K., Pandha, H. S. & Morgan, R. (2008) Disrupting the interaction between HOX and PBX causes necrotic and apoptotic cell death in the renal cancer lines CaKi-2 and 769-P. J Urol, 180, 2196-2201; Plowright, L., Harrington, K. J., Pandha, H. S. & Morgan, R. (2009) HOX transcription factors are potential therapeutic targets in non-small-cell lung cancer (targeting HOX genes in lung cancer). Br J Cancer, 100, 470-475; Daniels, T. R., Neacato, II, Rodriguez, J. A., Pandha, H. S., Morgan, R. & Penichet, M. L. (2010) Disruption of HOX activity leads to cell death that can be enhanced by the interference of iron uptake in malignant B cells. Leukemia, 24, 1555-1565; Morgan, R., Plowright, L., Harrington, K. J., Michael, A. & Pandha, H. S. (2010) Targeting HOX and PBX transcription factors in ovarian cancer. BMC Cancer, 10, 89; Morgan, R., Boxall, A., Harrington, K. J., Simpson, G. R., Gillett, C., Michael, A. & Pandha, H. S. (2012) Targeting the HOX/PBX dimer in breast cancer. Breast Cancer Res Treat, 136, 389-398; Errico, M. C., Felicetti, F., Bottero, L., Mattia, G., Boe, A., Felli, N., Petrini, M., Bellenghi, M., Pandha, H. S., Calvaruso, M., Tripodo, C., Colombo, M. P., Morgan, R. & Care, A. (2013) The abrogation of the HOXB7/PBX2 complex induces apoptosis in melanoma through the miR-221&222-c-FOS pathway. Int J Cancer, 133, 879-892; Morgan, R., Boxall, A., Harrington, K. J., Simpson, G. R., Michael, A. & Pandha, H. S. (2014) Targeting HOX transcription factors in prostate cancer. BMC Urol, 14, 17).

La presente invención proporciona nuevos péptidos, que perjudican la regulación de la transcripción dependiente de PBX (por ejemplo, activación o represión), por ejemplo al interferir con la interacción entre PBX y sus cofactores, preferiblemente HOX, y su ADN objetivo, por ejemplo, que afectan la unión de las proteínas HOX y PBX, tienen efectos posteriores que pueden ofrecer grandes ventajas tales como prevenir o reducir la división celular aberrante y mantener pluripotencia de las células madre. En particular, la presente invención proporciona nuevos péptidos que actúan como moduladores de PBX, en particular antagonistas, más particularmente, de la unión de la región de hexapéptido de la proteína HOX a PBX.

En un aspecto, la invención proporciona un péptido que comprende, o que consiste en, la secuencia de aminoácidos de Fórmula (I) (SEQ ID NO: 1):

$$Y^1X^1X^2KWX^3XX^5X^6X^7Y^2 \qquad (I)$$

en la que

la secuencia X^1 a X^7 es una secuencia de aminoácidos que comprende al menos 7 aminoácidos, que pueden estar interrumpidos opcionalmente por uno o dos residuos de aminoácidos entre una o más de las 9 posiciones de aminoácidos definidas en el presente documento;

X^1 se selecciona de W, T, PE, KQI, VV, PQT, H, RI y está ausente;

X^2 es un aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína;

X^3 es un aminoácido hidrófobo;

X^4 es un aminoácido con una cadena lateral cargada;

X^5 es un aminoácido con una cadena lateral básica;

X^6 es un aminoácido o está ausente;

X^7 es uno o más aminoácidos o está ausente; y

Y^1 e Y^2 están ausentes o son un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos, siempre que al menos uno de Y^1 e Y^2 esté presente;

en la que

la secuencia X^1 a X^7 se selecciona de WYKWMKKHH, WYKWMKKAA y

WYKWMKK.

A lo largo de esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, la palabra "comprende", o variaciones tales como "que comprende", debe entenderse que implica la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Una persona experta apreciará que cuando dos o más aminoácidos se combinan para formar un péptido, los elementos del agua se eliminan, y lo que queda de cada aminoácido se denomina residuo de aminoácido. El residuo de aminoácido es la parte de un aminoácido que lo hace único de todos los demás. Como tal, la referencia en el presente documento a un 'aminoácido' en el contexto de una secuencia de aminoácidos contenida dentro de un péptido se entenderá que se refiere al residuo de aminoácido respectivo de acuerdo con sea apropiado.

Los "péptidos" a los que se hace referencia en el presente documento son moléculas con menos de 100 residuos de aminoácidos; en particular menos de 50 residuos de longitud; más particularmente menos de 30 residuos de longitud; más particularmente de 10 a 25 residuos de longitud.

La unión de dicho péptido modulador de PBX a un polímero catiónico de aminoácidos básicos, tal como una secuencia de poliarginina, puede dar como resultado una eficacia mejorada. En particular, al usar un polímero catiónico como una fracción de penetración celular, los efectos del péptido pueden verse mucho más rápidamente que cuando se usan otras secuencias de penetración celular.

X^1 es W.

X^2 es Y.

X^3 es M.

X^4 es K.

X^5 es K.

En una realización, X^6 es H o A. En una realización adicional, X^6 es A. En una realización alternativa, X^6 está ausente.

En una realización, X^7 es H o A. En una realización adicional, X^7 es A. En una realización alternativa, X^7 está ausente.

En una realización, Y^1 y Y^2 están ausentes o un péptido que comprende un homopolímero catiónico de aminoácidos básicos, de modo que al menos uno de Y^1 y Y^2 está presente. En una realización adicional, los aminoácidos básicos de Y^1 y Y^2 si están presentes se seleccionan de arginina.

En una realización, Y^1 y/o Y^2 actúan como una fracción de penetración celular o comprenden una secuencia que actúa como una fracción de penetración celular.

Adecuadamente, la fracción Y^1 y/o Y^2 actúa como una fracción de penetración celular para permitir o ayudar a la entrada del péptido en una célula.

Adecuadamente, la secuencia X^1 a X^7 corresponde a la secuencia capaz de interferir con la interacción entre HOX y PBX *in vivo*.

El péptido de la invención comprende o consiste en cualquiera de las secuencias X^1 a X^7 descritas en el presente documento, unidas a cualquiera de los péptidos Y^1 y/o Y^2 descritos en el presente documento. Es decir, cualquier polímero catiónico de aminoácidos básicos descrito en el presente documento puede usarse en combinación con cualquier secuencia X^1 a X^7 descrita en el presente documento, y puede ubicarse en el terminal C, en el terminal N o en ambos terminales del péptido X^1 a X^7.

En la secuencia anterior (I), X^1 a X^4 forma la secuencia de hexapéptidos.

En una realización, los péptidos de Fórmula (I) tienen la fórmula:

Y^1WYKWMKKHHY^2 (SEQ ID NO: 3)

o derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos de los mismos, en los que Y^1 y

Y^2 son como se definen en el presente documento.

La secuencia X^1a X^7puede ser WYKWMKKHH (SEQ ID NO: 10) o WYKWMKKHHR (SEQ ID NO: 11), o X^1 a X^7 puede ser una variante del secuencia WYKWMKKHH (SEQ ID NO: 10), por ejemplo, una variante en la que uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos varían dentro de las limitaciones de la Fórmula (I) anterior. Por ejemplo, W en la posición X^1 puede estar ausente o puede ser reemplazado por cualquiera seleccionado de T, PE, KQI, VV, PQT, H y RI; Y en la posición X^2 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína, en particular seleccionada de C, F y W, más particularmente C; X^3 puede reemplazarse por otro aminoácido hidrófobo, en particular seleccionado de L, I y V; K en la posición X^4 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral cargada, en particular seleccionada de D, R y H, más particularmente R; K en la posición X^5 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral básica, en particular R; H en la posición X^6 puede reemplazarse por otro aminoácido, en particular seleccionado de K, R, E, D, N, Q, S y T, más particularmente T; H en la posición X^7 puede reemplazarse por cualquier otro o más aminoácidos o puede estar ausente, por ejemplo, X^7 puede ser T o estar ausente. Se pueden llevar a cabo una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de estas sustituciones para crear un péptido alternativo que se encuentre dentro del alcance de la Fórmula (I) anterior.

En otra realización, los péptidos de Fórmula (I) tienen la fórmula:

Y^1WYKWMKKAAY^2 (SEQ ID NO: 4)

o derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos de los mismos, en los que Y^1 y

Y^2 son como se definen en el presente documento.

La secuencia X^1 a X^7 puede ser WYKWMKKAA (SEQ ID NO: 12) o WYKWMKKAAR (SEQ ID NO: 13), o X^1 a X^7 puede ser una variante de la secuencia WYKWMKKAA (SEQ ID NO: 12), por ejemplo, una variante en la que uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos varían dentro de las limitaciones de la Fórmula (I) anterior. Por ejemplo, W en la posición X^1 puede estar ausente o puede ser reemplazado por cualquiera seleccionado de T, PE, KQI, VV, PQT, H y RI; Y en la posición X^2 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína, en particular seleccionada de C, F y W, más particularmente C; X^3 puede reemplazarse por otro aminoácido hidrófobo, en particular seleccionado de L, I y V; K en la posición X^4 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral cargada, en particular seleccionada de D, R y H, más particularmente R; K en la posición X^5 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral básica, en particular R; A en la posición X^6 puede reemplazarse por otro aminoácido, en particular seleccionado de K, R, E, D, N, Q, S y T, más particularmente T; A en la posición X^7 puede reemplazarse por cualquier otro o más aminoácidos o puede estar ausente, por ejemplo, X^7 puede ser T o estar ausente. Se pueden llevar a cabo una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de estas sustituciones para crear un péptido alternativo que se encuentre dentro del alcance de la Fórmula (I) anterior.

En otra realización, los péptidos de Fórmula (I) tienen la fórmula:

Y^1WYKWMKKY^2 (SEQ ID NO: 5)

o derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos de los mismos, en los que Y^1 y

Y^2 son como se definen en el presente documento.

La secuencia X^1 a X^7puede ser WYKWMKK (SEQ ID NO: 14) o WYKWMKKR (SEQ ID NO: 15), o X^1 a X^5 puede ser una variante del secuencia WYKWMKK (SEQ ID NO: 14), por ejemplo, una variante en la que uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos varían dentro de las limitaciones de la Fórmula (I) anterior. Por ejemplo, W en la posición X^1 puede estar ausente o puede ser reemplazado por cualquiera seleccionado de T, PE, KQI, VV, PQT, H y RI; Y en la posición X^2 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína, en particular seleccionada de C, F y W, más particularmente C; X^3 puede reemplazarse por otro aminoácido hidrófobo, en particular seleccionado de L, I y V; K en la posición X^4 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral cargada, en particular seleccionada de D, R y H, más particularmente R; K en la posición X^5 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral básica, en particular R. Cualesquiera una, dos, tres, cuatro o cinco de estas sustituciones pueden llevarse a cabo para crear un péptido alternativo que se encuentre dentro del alcance de la Fórmula (I) anterior.

En una realización, las sustituciones de aminoácidos se producen en las posiciones X^2 y X^3 a X^7. En una realización adicional, las sustituciones de aminoácidos se producen en una, dos, tres o cuatro de las posiciones X^3 a X^7.

Por ejemplo, en una realización, los residuos X^1 a X^7 en la Fórmula (I) anterior pueden ser:

X^1= W; X^2 = Y o C; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K, R o D; X^5 = K o R; X^6 = H; A, T o está ausente;

X^7 = cualquier aminoácido o está ausente;

X^1= W; X^2 = Y o C; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K, R o D; X^5 = K o R; X^6 = H, A, T o está ausente;

X^7 = H, HR, A, AR, T, G o está ausente;

X^1= W; X^2 = Y; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K o R; X^5 = K o R; X^6 = H, A, T o está ausente; X^7 = cualquier aminoácido o está ausente;

X^1= W; X^2 = Y; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K o R; X^5 = K o R; X^6 = H, A o T; X^7= H, HR, A, AR, T, G o está ausente.

Las secuencias adecuadas para X^1 a X^7 incluyen:

WYKWMKKHH (SEQ ID NO: 10)

WCKWLDRHG (SEQ ID NO: 19)

WYKVWKKHH (SEQ ID NO: 20)

WYKWIKKHH (SEQ ID NO: 21)

WYKWMRKHH (SEQ ID NO: 22)

WYKWMKRHH (SEQ ID NO: 23)

WYKWMRRHH (SEQ ID NO: 24)

WYKWMKKTH (SEQ ID NO: 25)

WYKWMKKHT (SEQ ID NO: 26)

WYKWMKKTT (SEQ ID NO: 27)

WCKWMKKHH (SEQ ID NO: 28)

WCKWMRKHH (SEQ ID NO: 29)

WCKWMKRHH (SEQ ID NO: 37)

WCKWMRRHH (SEQ ID NO: 38)

WYKWMKRTH (SEQ ID NO: 39)

WYKWMRKTH (SEQ ID NO: 40)

WYKWMRRTH (SEQ ID NO: 41)

WYKWMRKHT (SEQ ID NO: 42)

WYKWMKRHT (SEQ ID NO: 43)

WYKWMRRHT (SEQ ID NO: 44)

WYKWMRRTT (SEQ ID NO: 45)

WYKWLRKHH (SEQ ID NO: 46)

WYKWLKRHH (SEQ ID NO: 47)

WYKWMKKH (SEQ ID NO: 48)

WYKWMKKAA (SEQ ID NO: 12)

WCKWLDRAG (SEQ ID NO: 49)

WYKVWKKAA (SEQ ID NO: 50)

WYKWIKKAA (SEQ ID NO: 51)

WYKWMRKAA (SEQ ID NO: 52)

WYKWMKRAA (SEQ ID NO: 53)

WYKWMRRAA (SEQ ID NO: 54)

WYKWMKKTA (SEQ ID NO: 55)

WYKWMKKAT (SEQ ID NO: 56)

WCKWMKKAA (SEQ ID NO: 57)

WCKWMRKAA (SEQ ID NO: 58)

WCKWMKRAA (SEQ ID NO: 59)

WCKWMRRAA (SEQ ID NO: 60)

WYKWMKRTA (SEQ ID NO: 61)

WYKWMRKTA (SEQ ID NO: 62)

WYKWMRRTA (SEQ ID NO: 63)

WYKWMRKAT (SEQ ID NO: 64)

WYKWMKRAT (SEQ ID NO: 65)

WYKWMRRAT (SEQ ID NO: 66)

WYKWLRKAA (SEQ ID NO: 67)

WYKWLKRAA (SEQ ID NO: 68)

WYKWMKKA (SEQ ID NO: 69)

WYKWMKK (SEQ ID NO: 14)

Se puede usar cualquiera de estas secuencias X^1 - X^7 variantes en combinación con cualquiera de los residuos Y^1 y/o Y^2 descritos en este documento. Por ejemplo, cualquiera de las secuencias X^1 - X^7 descritas en este documento pueden usarse con un péptido $(Arg)_{6-12}$, por ejemplo, un péptido $(Arg)_6$[SEQ ID NO: 90], $(Arg)_7$[SEQ ID NO: 91], $(Arg)_8$[SEQ ID NO: 92], $(Arg)_9$[SEQ ID NO: 9], $(Arg)_{10}$[SEQ ID NO: 93], $(Arg)_{11}$[SEQ ID NO: 94] o $(Arg)_{12}$[SEQ ID NO: 95] unido en el terminal C, en el terminal N o en ambos extremos.

Como se explicó anteriormente, Y^1 y/o Y^2 es, o comprende, un polímero catiónico de aminoácidos básicos. Típicamente, Y^1 y/o Y^2 comprenden una secuencia capaz de actuar como una fracción de penetración celular.

En una realización, Y^1 está unido a través del grupo amino terminal N en X^1. En una realización alternativa, Y^1 se une mediante una cadena lateral de X^1. En una realización, Y^2 se une a través del grupo carboxilo del terminal C en X^7. En una realización alternativa, Y^2 se une mediante una cadena lateral de X^7. Cuando están presentes, Y^1 y Y^2 son cada uno adecuadamente un péptido de 50 aminoácidos o menos que está opcionalmente sustituido.

Como se usa en el presente documento, una "fracción de penetración celular" se refiere a una molécula, estructura o colección de moléculas que ayudan o facilitan la entrada de la molécula a la que está unida en una célula.

En el contexto de Y^1 y/o Y^2, puede usarse cualquier polímero catiónico de aminoácidos básicos que pueda permitir o ayudar a una molécula, tal como un péptido al que está unido, puede entrar en una célula. La fracción puede ser una sustancia de acción general que puede entrar en una variedad de tipos de células, o puede ser específica o dirigida a un tipo de célula particular a tratar.

Una fracción de penetración celular puede unirse directamente al péptido X^1 a X^7, o puede unirse mediante una secuencia enlazadora de uno o más aminoácidos. La secuencia enlazadora puede comprender el o los aminoácidos en la posición X^7. Típicamente, el enlazador comprende aminoácidos que no tienen grupos laterales voluminosos y, por lo tanto, no obstruyen el plegamiento de la proteína tal como serina y glicina. El enlazador permite que la fracción de penetración celular ayude o facilite la entrada del péptido en una célula y también permite que la parte del péptido que interactúa con HOX-PBX interfiera con la unión de HOX-PBX. El enlazador puede ser un enlazador de aminoácidos flexible. El enlazador tiene típicamente una longitud de hasta 20 aminoácidos, tal como 5 a 18 o 10 a 16, en particular 15 aminoácidos.

Una fracción de penetración celular puede asociarse alternativamente con un péptido X^1 a X^7, por ejemplo puede encapsular o formar un complejo con dicho péptido, por ejemplo mediante el uso de liposomas para lipofección o policationes o lípidos catiónicos. "Asociado con", como se usa en el presente documento, se refiere a la fracción que

está unida o conectada de alguna manera al péptido.

En una realización, Y^1 y/o Y^2 es, o comprende, un polímero catiónico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como se usa en el presente documento, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y, que típicamente no son biológicamente ni de otro modo indeseables. Los péptidos de la presente invención son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos.

Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/hidrobromuro, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, alcanforsulfonato, cloruro/hidrocloruro, cloroteofilonato, citrato, etanodisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato`` hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrógeno fosfato/ dihidrógeno fosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato, trifluoroacetato y trifluorometilsulfonato.

Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

Los ácidos orgánicos de los que se pueden derivar las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido trifluorometil sulfónico, ácido sulfosalicílico y similares. Se pueden formar sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables con bases inorgánicas y orgánicas.

Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc y cobre; sales particularmente adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio iónico y similares. Ciertas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

Además, los péptidos de la presente invención, incluidas sus sales, también se pueden obtener en forma de sus hidratos, o incluir otros disolventes utilizados para su cristalización.

Los péptidos de la invención, es decir, los péptidos de Fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores para enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar cocristales con formadores adecuados de cocristales. Estos cocristales pueden prepararse a partir de péptidos de Fórmula (I) mediante procedimientos conocidos de formación de cocristales. Dichos procedimientos incluyen molienda, calentamiento, cosublimación, cofusión o contacto en solución de compuestos de Fórmula (I) con el formador de cocristales en condiciones de cristalización y aislando los cocristales formados de este modo. Los formadores de cocristales adecuados incluyen los descritos en el documento WO 2004/078163. Por lo tanto, la invención proporciona además cocristales que comprenden un péptido de Fórmula (I).

Una persona experta apreciará que cuando están presentes tanto un grupo básico como un grupo ácido, los péptidos de la presente invención también pueden formar sales internas, por ejemplo, iones híbridos.

Y^1 y/o Y^2 son, o comprenden un polímero catiónico de aminoácidos básicos. Adecuadamente, los aminoácidos básicos se seleccionan de lisina, arginina e histidina. Dichos poliaminoácidos están fácilmente disponibles a través de Sigma-Aldrich.

Y^1 y/o Y^2 pueden ser, o pueden comprender, un homopolímero de un aminoácido básico. Por ejemplo, Y^1 y/o Y^2 pueden ser una poliarginina, polilisina o polihistidina. Alternativamente, el poliaminoácido puede ser un polímero de uno o más aminoácidos básicos, que opcionalmente también incluye uno o más aminoácidos no básicos. De este modo, el poliaminoácido puede comprender uno o más aminoácidos básicos y opcionalmente uno o más de otros aminoácidos. Tal copolímero típicamente comprende una mayoría de aminoácidos básicos. Por ejemplo, del 50 al 100% de los aminoácidos en el copolímero pueden ser básicos. Adecuadamente, del 60 al 90% o del 70 al 80% son básicos. En una realización, al menos el 75%, por ejemplo al menos el 85%, 95%, 98% o 99% de los aminoácidos en el copolímero son básicos. En una realización, estos aminoácidos básicos, o un grupo de tales aminoácidos básicos, se pueden ubicar juntos como una cadena de solo aminoácidos básicos dentro del copolímero. En general, los aminoácidos básicos comprenden uno o más de lisina, histidina y arginina. Cuando el copolímero incluye uno o más aminoácidos no básicos, estos preferiblemente no son aminoácidos ácidos, tales como aspartato o glutamato. El uno o más aminoácidos no básicos pueden incluir aminoácidos con cadenas laterales alifáticas o aromáticas, por ejemplo,

treonina, prolina, triptófano, serina o fenilalanina.

Los aminoácidos en cualquiera de los poliaminoácidos anteriores pueden ser aminoácidos L o D.

En una realización, la poliamina es un homopolímero de arginina $(Arg)_x$ o lisina $(Lys)_x$. La poli-L-arginina o la poli-L-lisina son adecuadas, en particular la poli-L-arginina. Típicamente, el homopolímero tiene un peso molecular de aproximadamente 500 a 15000, por ejemplo de 500 a 10000, de 500 a 5000 o de 500 a 1000. En una realización, x en la fórmula anterior puede variar de 3 a 100, por ejemplo de 3 a 50, de 3 a 30 o de 3 a 20. Los homopolímeros de péptidos pequeños son particularmente adecuados, por ejemplo, aquellos que tienen un peso molecular en el rango de 500 a 1500, tal como 500 a 1250, o 700 a 1000. Típicamente, en un péptido pequeño, x tiene un valor de 3 a 15, por ejemplo de 6 a 12. Por ejemplo, Y^1 y/o Y^2 pueden ser, o comprender, una poliarginina que consiste entre 6 y 12 residuos de arginina. En el presente documento se ejemplifican péptidos en los que Y^1 y/o Y^2 es $(Arg)_9$, por ejemplo, en los que Y^1 está ausente y Y^2 es Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg-Arg (SEQ ID NO: 9).

Los péptidos particularmente adecuados incluyen, por lo tanto, aquellos en los que Y^1 y/o $Y^2 = (Arg)_9$.

Los péptidos particularmente adecuados tienen la secuencia

WYKWMKKHHRRRRRRRRR (SEQ ID NO: 6);

WYKWMKKAARRRRRRRRR (SEQ ID NO: 7);

WYKWMKKRRRRRRRRR (SEQ ID NO: 8);

o un derivado, variante o fragmento funcionalmente equivalente del mismo.

Los aminoácidos en los péptidos de Fórmula (I) pueden ser aminoácidos L o D.

Todos los aminoácidos en el péptido pueden tener la misma estereoquímica, por ejemplo, el péptido puede consistir solo en L-aminoácidos o solo D-aminoácidos. Alternativamente, el péptido puede comprender una combinación de aminoácidos L y D. Como se explica a continuación, variando el número y la posición de los L y D-aminoácidos en el péptido, puede ser posible efectuar la estabilidad del péptido resultante, por ejemplo, la estabilidad del péptido después de la administración al cuerpo. En una realización, al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C del péptido están en la conformación D mientras que los aminoácidos restantes están en la conformación L.

Opcionalmente, uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos adicionales también están en la conformación D. Opcionalmente, uno o más aminoácidos en, o adyacentes a la posición X^7 están en la conformación D. Opcionalmente, los aminoácidos en las posiciones X^2 a X^3 están en la conformación L.

Se sabe que la estabilidad de los péptidos moduladores de PBX puede mejorarse incorporando uno o más D-aminoácidos en el péptido. En particular, la vida media de los péptidos en plasma puede mejorarse usando D-aminoácidos en al menos las posiciones del terminal N y terminal C del péptido. Esta vida media mejorada se observa en péptidos que comprenden una variedad de secuencias de penetración celular.

Por consiguiente, en una segunda realización, un péptido de la invención comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de Fórmula (II) (SEQ ID NO: 2):

$$Y^3X^1X^2KWX^3XX^5X^6X^7Y^4 \qquad (II)$$

o un derivado, variante o fragmento funcionalmente equivalente del mismo

en el que

la secuencia X^1 a X^7 es una secuencia de aminoácidos que comprende al menos 7 aminoácidos, que pueden estar interrumpidos opcionalmente por uno o dos residuos de aminoácidos entre una o más de las 9 posiciones de aminoácidos definidas en el presente documento;

X^1 se selecciona de W, T, PE, KQI, VV, PQT, H, RI y está ausente;

X^2 es un aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína;

X^3 es un aminoácido hidrófobo

X^4 es un aminoácido con una cadena lateral cargada;

X^5 es un aminoácido con una cadena lateral básica;

X^6 es un aminoácido o está ausente;

X^7 es uno o más aminoácidos o está ausente; y

Y^3 y Y^4 están ausentes o son un péptido que comprende una secuencia que comprende una fracción de penetración celular, siempre que esté presente al menos uno de Y^3 y Y^4;

en el que al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C de dicho péptido están en la conformación D;

en el que

la secuencia X^1 a X^7 se selecciona de WYKWMKKHH, WYKWMKKAA y

WYKWMKK;.

X^1 es W.

X^2 es Y.

X^3 es M.

X^4es K.

X^5 es K.

En una realización, X^6 es H o A. En una realización adicional, X^6 es A. En una realización alternativa, X^6 está ausente.

En una realización, X^7 es H o A. En una realización adicional, X^7 es A. En una realización alternativa, X^7 está ausente.

En la secuencia anterior, X^1 a X^4 forma la secuencia del hexapéptido.

En una realización, los péptidos de Fórmula (II) tienen la fórmula:

Y^3WYKWMKKHHY^4 (SEQ ID NO: 16)

o derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos de los mismos, en los que Y3 y Y4 son como se definen en el presente documento.

La secuencia X^1 a X^7 puede ser WYKWMKKHH (SEQ ID NO: 10) o WYKWMKKHHR (SEQ ID NO: 11), o X^1 a X^7 puede ser una variante de la secuencia WYKWMKKHH (SEQ ID NO: 10), por ejemplo, una variante en la que uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos varían dentro de las limitaciones de la Fórmula (I) anterior. Por ejemplo, W en la posición X^1 puede estar ausente o puede ser reemplazado por cualquiera seleccionado de T, PE, KQI, VV, PQT, H y RI; Y en la posición X^2 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína, en particular seleccionada de C, F y W, más particularmente C; X^3 puede reemplazarse por otro aminoácido hidrófobo, en particular seleccionado de L, I y V; K en la posición X^4 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral cargada, en particular seleccionada de D, R y H, más particularmente R; K en la posición X^5 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral básica, en particular R; H en la posición X^6 puede reemplazarse por otro aminoácido, en particular seleccionado de K, R, E, D, N, Q, S y T, más particularmente T; H en la posición X^7 puede reemplazarse por cualquier otro o más aminoácidos o puede estar ausente, por ejemplo, X^7 puede ser T o estar ausente. Se pueden llevar a cabo una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de estas sustituciones para crear un péptido alternativo que se encuentre dentro del alcance de la Fórmula (II) anterior.

En otra realización, los péptidos de Fórmula (II) tienen la fórmula:

Y^3WYKWMKKAAY^4 (SEQ ID NO: 17)

o derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos de los mismos, en los que Y^3 y Y^4 son como se definen en el presente documento.

La secuencia X^1 a X^7 puede ser WYKWMKKAA (SEQ ID NO: 12) o WYKWMKKAAR (SEQ ID NO: 13), o X^1 a X^7puede ser una variante de la secuencia WYKWMKKAA (SEQ ID NO: 12), por ejemplo, una variante en la que uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos varían dentro de las limitaciones de la Fórmula (II) anterior. Por ejemplo, W en la posición X^1 puede estar ausente o puede ser reemplazado por cualquiera seleccionado de T, PE, KQI, VV, PQT, H y RI; Y en la posición X^2 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína, en particular seleccionada de C, F y W, más particularmente C; X^3 puede reemplazarse por otro aminoácido hidrófobo, en particular seleccionado de L, I y V; K en la posición X^4 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral cargada, en particular seleccionada de D, R y H, más particularmente R; K en la posición X^5 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral básica, en particular R; A en la posición X^6 puede reemplazarse por otro aminoácido, en particular seleccionado de K, R, E, D, N, Q, S y T, más particularmente T; A en la posición X^7 puede reemplazarse por cualquier otro o más aminoácidos o puede estar ausente, por ejemplo, X^7 puede ser T o estar ausente. Se pueden llevar a cabo una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete de estas sustituciones para crear un péptido alternativo que se encuentre dentro del alcance de la Fórmula (II) anterior.

En otra realización, los péptidos de Fórmula (II) tienen la fórmula:

Y^3WYKWMKKY^4 (SEQ ID NO: 18)

o derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos de los mismos, en los que Y^3 y Y^4 son como se definen en el presente documento.

La secuencia X^1 a X^7 puede ser WYKWMKK (SEQ ID NO: 14) o WYKWMKKR (SEQ ID NO: 15), o X^1 a X^5 puede ser una variante de la secuencia WYKWMKK (SEQ ID NO: 14), por ejemplo, una variante en la que uno, dos, tres, cuatro o más aminoácidos varían dentro de las limitaciones de la Fórmula (II) anterior. Por ejemplo, W en la posición X^1 puede estar ausente o puede ser reemplazado por cualquiera seleccionado de T, PE, KQI, VV, PQT, H y RI; Y en la posición X^2 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína, en particular seleccionada de C, F y W, más particularmente C; X^3 puede reemplazarse por otro aminoácido hidrófobo, en particular seleccionado de L, I y V; K en la posición X^4 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral cargada, en particular seleccionada de D, R y H, más particularmente R; K en la posición X^5 puede reemplazarse por otro aminoácido con una cadena lateral básica, en particular R. Cualesquiera una, dos, tres, cuatro o cinco de estas sustituciones pueden llevarse a cabo para crear un péptido alternativo dentro del alcance de la Fórmula (II) anterior.

En una realización, las sustituciones de aminoácidos se producen en las posiciones X^2 y X^3 a X^7. En una realización adicional, las sustituciones de aminoácidos se producen en una, dos, tres o cuatro de las posiciones X^3 a X^7.

Por ejemplo, en una realización, los residuos X^1 a X^7 en la Fórmula (II) anterior pueden ser:

X^1 = W; X^2 = Y o C; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K, R o D; X^5 = K o R; X^6 = H, A, T o está ausente;

X^7 = cualquier aminoácido o está ausente;

X^1 = W; X^2 = Y o C; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K, R o D; X^5 = K o R; X^6 = H, A, T o está ausente; X^7 = H, HR, A, AR, T, G o está ausente;

X^1 = W; X^2 = Y; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K o R; X^5 = K o R; X^6 = H, A, T o está ausente; X^7 = cualquier aminoácido o está ausente;

X^1 = W; X^2 = Y; X^3 = M, I, V o L; X^4 = K o R; X^5 = K o R; X^6 = H, A, T; X^7 = H, HR, A, AR, T, G o está ausente.

Se puede usar cualquiera de estas secuencias X^1 - X^7 variantes en combinación con cualquiera de los residuos Y^3 y/o Y^4 descritos en este documento. Por ejemplo, cualquiera de las secuencias X^1 - X^7 descritas en este documento puede usarse con un péptido $(Arg)_{6-12}$, por ejemplo, un péptido $(Arg)_7$, $(Arg)_8$ o $(Arg)_9$ unido al terminal C, al terminal N o a ambos extremos. Alternativamente, cualquiera de las secuencias X^1 - X^7 descritas en el presente documento pueden usarse con un péptido de penetratina, tal como aquellas descritas a continuación, unidas al terminal C, al terminal N o a ambos extremos.

Como se definió en el presente documento anteriormente, una "fracción de penetración celular" se refiere a una molécula, estructura o colección de moléculas que ayudan o facilitan la entrada de la molécula a la que está unida en una célula.

Una variedad de tales fracciones son bien conocidas en la técnica e incluyen péptidos tales como penetratinas, proteínas derivadas de tat, secuencias de señales peptídicas que permiten la entrada celular, péptidos que comprenden tales señales peptídicas, así como péptidos sintéticos y/o quiméricos que penetran células tales como péptidos anfipáticos transportan o modelo (Lindgren et al., 2000, TiPS, 21, páginas 99-103 y Derossi et al., 1998, Trends C. Biol., 8, páginas 84-87). También se pueden usar moléculas o sustancias no peptídicas que son capaces de entrar en las células. Adecuadamente, la fracción de penetración celular actúa por un mecanismo independiente del receptor. Se puede usar cualquier sustancia que pueda permitir o ayudar a una molécula, tal como un péptido de la invención, a ingresar a una célula. La fracción puede ser una sustancia de acción general que puede entrar en una variedad de tipos de células, o puede ser específica o dirigida a un tipo de célula particular a tratar.

Una fracción de penetración celular puede estar directamente unida al péptido X^1 a X^7, o puede estar unida a través de una secuencia enlazadora de uno o más aminoácidos. La secuencia enlazadora puede comprender el o los aminoácidos en la posición X^7. Una fracción de penetración celular puede asociarse alternativamente con un péptido X^1 a X^7, por ejemplo, puede encapsular o formar un complejo con dicho péptido, por ejemplo mediante el uso de liposomas para lipofección o policationes o lípidos catiónicos.

"Asociado con" como se usa en el presente documento se refiere a la fracción que está unida o conectada de alguna manera, al péptido.

En una realización, Y^3 y/o Y^4 pueden comprender o consistir en un polímero catiónico de aminoácidos básicos como se describió anteriormente. Cualquiera de estos polímeros catiónicos descritos anteriormente puede usarse en esta realización de la invención. Por ejemplo, Y^3 y/o Y^4 pueden comprender o consistir en una secuencia de poliarginina tal como $(Arg)_9$.

En una realización alternativa, dicha fracción de penetración celular comprende o consiste en un péptido basado en

la secuencia de penetratina que tiene la siguiente fórmula general (SEQ ID NO: 30)

$X^9Q\ X^{10}X^{11}X^{12}W\ F\ Q\ N\ X^{13}\ X^{14}\ M\ X^{15}W\ X^{16}\ X^{17}$ en la que

X^9 es R o Q o está ausente;

X^{10}, X^{12} son cada uno independientemente I o L; y

X^{11}, X^{13}, X^{14}, X^{15}, X^{16} y X^{17} son cada uno independientemente K o R.

Adecuadamente, la secuencia de penetratina tiene la forma:

QIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 70);

QIRIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 71);

QIKIWFQNKRMKWKK (SEQ ID NO: 72);

QIKIWFQNKKMKWKK (SEQ ID NO: 73);

QIRIWFQNRKMKWKK (SEQ ID NO: 74);

QIRIWFQNRRMRWKK (SEQ ID NO: 75);

QIRIWFQNRRMKWRK (SEQ ID NO: 76);

QIRIWFQNRRMKWKR (SEQ ID NO: 77);

QIRIWFQNRRMKWRR (SEQ ID NO: 78);

QIRIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 79);

QIKIWFQNRRMKWRK (SEQ ID NO: 80);

QIRIWFQNKRMKWRK (SEQ ID NO: 81);

QIKLWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 82);

QLKLWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 83); o

QLRIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 84).

Un péptido particularmente adecuado tiene la secuencia

WYKWMKKHHRQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 31)

o un derivado, variante o fragmento funcionalmente equivalente del mismo.

Un péptido alternativo tiene la secuencia WYKWMKKHHRQIKIWFQNRRMKWK (SEQ ID NO: 34).

Un péptido particularmente adecuado tiene la secuencia

WYKWMKKAARQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 32).

Un péptido alternativo tiene la secuencia WYKWMKKAARQIKIWFQNRRMKWK (SEQ ID NO: 35).

Un péptido particularmente adecuado tiene la secuencia

WYKWMKKRQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 33).

Un péptido alternativo tiene la secuencia WYKWMKKRQIKIWFQNRRMKWK (SEQ ID NO: 36).

En los péptidos de Fórmula (II), dos o más de los aminoácidos están presentes en la conformación D. Al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C están presentes en la conformación D. Uno, dos, tres, cuatro, cinco o más aminoácidos adicionales también pueden ser D-aminoácidos. Por ejemplo, el o los aminoácidos en o adyacente a la posición X^7 pueden ser o comprender D-aminoácido(s). Todos los aminoácidos en el péptido pueden estar en la conformación D. En una realización, los aminoácidos del terminal N y el terminal C son D-aminoácidos y los aminoácidos restantes son L-aminoácidos. Opcionalmente, los aminoácidos en las posiciones X^2 a X^3 están en la conformación L. En una realización, al menos los aminoácidos de los terminales N y C son D-aminoácidos, y los aminoácidos en las posiciones X^2 a X^3 son L-aminoácidos.

Los derivados "funcionalmente equivalentes", variantes o fragmentos de los mismos se refieren a péptidos

relacionados con, o derivados de, los péptidos de la invención en los que la secuencia de aminoácidos ha sido modificada, por ejemplo, mediante el uso de aminoácidos modificados o por la sustitución, adición y/o eliminación de un solo o múltiples aminoácidos (por ejemplo, de 1 a 10, por ejemplo, de 1 a 5, en particular 1 o 2 residuos) pero que, sin embargo, retienen la actividad funcional. Por ejemplo, los derivados funcionalmente equivalentes de los péptidos específicos de las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 31, 32 y 33, pueden retener la capacidad de actuar como imitadores de HOX y, por lo tanto, antagonizar la interacción entre las proteínas HOX y las proteínas PBX (en particular PBX1 o PBX2). Dicha interacción puede evaluarse utilizando técnicas de laboratorio comunes. Uno de estos métodos se establece en la solicitud internacional de patente PCT/GB2006/002390 publicada como WO2007/00601 el 4 de enero de 2007. Los derivados funcionalmente equivalentes de la secuencia $(Arg)_x$ o una secuencia de penetratina pueden retener la actividad como una fracción de penetración celular, por ejemplo permitiendo la entrada del péptido unido en una célula. Dicha capacidad también puede evaluarse mediante técnicas comúnmente conocidas, tales como las descritas en el Ejemplo 1.

Los derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos adecuados de los péptidos de las SEQ ID NO: 6, 7 u 8 estarán dentro del alcance o comprenderán la secuencia de la SEQ ID NO: 1. Derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos adecuados de $(Arg)_9$ estarán dentro del alcance de Y^1 y/o Y^2 como se describió anteriormente.

Los derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos adecuados de los péptidos de las SEQ ID NO: 31, 32 o 33 estarán dentro del alcance o comprenderán la secuencia de la SEQ ID NO: 2. Los derivados funcionalmente equivalentes, variantes o fragmentos adecuados de la secuencia de penetratina estará dentro del alcance o comprenderá la secuencia de la SEQ ID NO: 30.

Dentro del significado de "adición", se incluyen variantes que son proteínas o polipéptidos de fusión de los terminales amino y/o carboxilo, que comprenden una proteína o polipéptido adicional fusionado a la secuencia peptídica.

Como se mencionó anteriormente, el péptido puede estar sustituido, preferiblemente en el terminal N o C, por una fracción adicional. Dichas fracciones pueden agregarse para ayudar a la función del péptido, su selección o su síntesis, captura o identificación, por ejemplo una etiqueta (por ejemplo, biotina) o moléculas de lípidos. Tales fracciones pueden encontrarse alternativamente dentro del péptido mismo. Por ejemplo, una fracción tal como una etiqueta puede estar unida a un aminoácido ubicado internamente dentro del péptido. Por ejemplo, X^7 puede comprender toda o parte de dicha fracción, o dicha fracción puede formar parte de, o estar ubicado dentro de, Y^1, Y^2, Y^3 y/o Y^4.

Las variantes de "sustitución" implican preferiblemente el reemplazo de uno o más aminoácidos con el mismo número de aminoácidos y hacer sustituciones conservadoras de aminoácidos. Por ejemplo, un aminoácido puede estar sustituido con un aminoácido alternativo que tenga propiedades similares, por ejemplo, otro aminoácido básico, otro aminoácido cargado, otro aminoácido hidrofílico u otro aminoácido alifático. Algunas propiedades de los aminoácidos principales son las siguientes en la Tabla 1:

Tabla 1: Propiedades de los 20 aminoácidos principales.

Ala (A)	alifático, hidrófobo, neutro	Met (M)	hidrófobo, neutro
Cys (C)	polar, hidrófobo, neutro	Asn (N)	polar, hidrofílico, neutro
Asp (D)	polar, hidrofílico, cargado (-)	Pro (P)	hidrófobo, neutro
Glu (E)	polar, hidrofílico, cargado (-)	Gln (Q)	polar, hidrofílico, neutro
Phe (F)	aromático, hidrófobo, neutro	Arg (R)	polar, hidrofílico, cargado (+)
Gly (G)	alifático, neutro	Ser (S)	polar, hidrofílico, neutro
His (H)	aromático, polar, hidrofílico cargado (+)	Thr (T)	polar, hidrofílico, neutro
Ile (I)	alifático, hidrófobo, neutro	Val (V)	alifático, hidrófobo, neutro
Lys (K)	polar, hidrofílico, cargado (+)	Trp (W)	aromático, hidrófobo, neutro
Leu (L)	alifático, hidrófobo, neutro	Tyr (Y)	aromático, polar, hidrófobo

Adecuadamente, los "derivados" o "variantes" incluyen aquellos en los que, en lugar del aminoácido natural, el aminoácido que aparece en la secuencia es un análogo estructural del mismo. Los aminoácidos utilizados en las secuencias también pueden derivatizarse o modificarse, por ejemplo etiquetado, que proporciona la función del péptido no se ve afectado de manera adversa significativamente.

Los derivados y variantes como se describieron anteriormente pueden prepararse durante la síntesis del péptido o mediante modificación posterior a la producción, o cuando el péptido está en forma recombinante usando las técnicas conocidas de mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria o escisión enzimática y/o ligadura de ácidos nucleicos.

Los "fragmentos" funcionalmente equivalentes de acuerdo con la invención pueden elaborarse por truncamiento, por ejemplo mediante la eliminación de uno o más aminoácidos de los extremos terminales N y/o C. Dichos fragmentos pueden derivarse de una secuencia de la SEQ ID NO: 1 o 2 o pueden derivarse de un péptido funcionalmente equivalente como se describió anteriormente. Adecuadamente, dichos fragmentos tienen entre 6 y 30 residuos de longitud, por ejemplo 6 a 25 o 10 a 15 residuos.

Adecuadamente, las variantes funcionales de acuerdo con la invención tienen una secuencia de aminoácidos que tiene más del 70%, por ejemplo 75 u 80%, preferiblemente más del 85%, por ejemplo más del 90 o 95% de homología con, por ejemplo, la SEQ ID NO: 6, 7, 8, 31, 32 o 33, (de acuerdo con la prueba descrita más adelante).

En relación con las secuencias de aminoácidos, "identidad de secuencia" se refiere a secuencias que tienen el valor establecido cuando se evalúan usando ClustalW (Thompson et al., 1994, citado anteriormente) con los siguientes parámetros:

Parámetros de alineación por pares, Método: preciso, Matriz: PAM, penalización por apertura hueco:

10.00, penalización por extensión de hueco: 0.10;

Múltiples parámetros de alineación, Matriz: PAM, penalización por apertura de hueco: 10.00, % de identidad por retraso: 30, penalización por huecos en los extremos: activado, distancia de separación de huecos: 0, matriz negativa: no, penalización por extensión de huecos: 0.20, penalizaciones por huecos específicos de residuos: activado, Penalizaciones por hueco hidrofílico: activado, Residuos hidrofílicos: GPSNDQEKR. La identidad de secuencia en un residuo particular pretende incluir residuos idénticos que simplemente se han derivatizado.

Los péptidos de la invención, como se definen en el presente documento, pueden modificarse químicamente, por ejemplo, modificarse postraduccionalmente. Por ejemplo, pueden estar glicosilados o comprender residuos de aminoácidos modificados. Pueden estar en una variedad de formas de derivados de polipéptidos, incluidas amidas y conjugados con polipéptidos.

Los péptidos modificados químicamente también incluyen aquellos que tienen uno o más residuos derivatizados químicamente por reacción de un grupo lateral funcional. Dichos grupos laterales derivatizados incluyen aquellos que se han derivatizado para formar clorhidratos de amina, grupos p-toluenosulfonilo, grupos carbobenzoxi, grupos t-butiloxicarbonilo, grupos cloroacetilo y grupos formilo. Los grupos carboxilo libres pueden derivatizarse para formar sales, ésteres metílicos y etílicos u otros tipos de ésteres o hidrazidas. Los grupos hidroxilo libres pueden derivatizarse para formar derivados de O-acilo u O-alquilo. El nitrógeno del imidazol de la histidina puede derivatizarse para formar N-im-bencil histidina.

También se incluyen como péptidos modificados químicamente los péptidos ciclados, es decir, los péptidos de la invención que están unidos con un enlace covalente para generar un anillo. Típicamente un terminal amino y un terminal carboxilo (llamado ciclación de la cabeza a la cola), un terminal amino y una cadena lateral (llamada ciclación de la cabeza a la cadena lateral), terminal carboxi y una cadena lateral (llamada ciclación de la cadena lateral a la cola), o una cadena lateral y una cadena lateral (denominada ciclación de cadena lateral a cadena lateral) pueden estar unidas con un enlace covalente para formar un péptido cíclico. Los péptidos cíclicos de cabeza a cola pueden formarse típicamente mediante la formación de enlaces amida. Los ciclos de cadena lateral a cadena lateral pueden formarse típicamente a través de la formación de puentes disulfuro Cys-Cys o la formación de enlaces amida dentro de un péptido cíclico. Alternativamente, un terminal amino, un terminal carboxilo o una cadena lateral pueden estar unidos con un enlace covalente a la cadena principal del péptido para formar un péptido cíclico.

También se incluyen como péptidos modificados químicamente aquellos que contienen uno o más derivados de aminoácidos naturales de los veinte aminoácidos estándar.

Por ejemplo, 4-hidroxiprolina puede ser sustituida por prolina o la homoserina puede ser sustituida por serina.

Un péptido de la invención puede portar una etiqueta de revelado. Las etiquetas adecuadas incluyen radioisótopos, etiquetas fluorescentes, etiquetas enzimáticas u otras etiquetas de proteína tales como biotina.

Cualquier fórmula presentada en este documento también pretende representar formas no etiquetadas así como formas etiquetadas isotópicamente de los péptidos. Los péptidos etiquetados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas presentadas en el presente documento, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionado. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los péptidos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{125}I respectivamente. La invención incluye varios péptidos etiquetados isotópicamente como se define en el presente documento, por ejemplo, aquellos en los

que están presentes isótopos radiactivos, tales como ^{3}H y ^{14}C. Dichos péptidos etiquetados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios cinéticos de reacción (con, por ejemplo, ^{2}H o ^{3}H), técnicas de detección o formación de imágenes, como la tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) que incluye ensayos de distribución de fármacos o sustratos en tejidos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. En particular, un ^{18}F o péptidos etiquetados pueden ser particularmente deseables para estudios de PET o SPECT. Los péptidos etiquetados isotópicamente de esta invención y los profármacos de los mismos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones descritos a continuación sustituyendo un reactivo etiquetado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo etiquetado no isotópicamente.

Los péptidos etiquetados isotópicamente de la invención generalmente se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en la presente memoria usando reactivos apropiados etiquetados isotópicamente en lugar del reactivo no etiquetado previamente empleado.

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en los que el disolvente de cristalización puede estar sustituido isotópicamente, por ejemplo D_2O, d_6-acetona, d_6-DMSO.

Los péptidos como los descritos anteriormente para su uso de acuerdo con la invención pueden prepararse mediante modos de síntesis convencionales que incluyen medios genéticos o químicos.

Se pueden preferir técnicas de síntesis, tales como una síntesis de tipo Merrifield en fase sólida, por razones de pureza, especificidad antigénica, libertad de productos secundarios no deseados y facilidad de producción. Los expertos en la técnica conocen bien las técnicas adecuadas para la síntesis de péptidos en fase sólida (véase, por ejemplo, Merrifield et al., 1969, Adv. Enzymol 32, 221-96 y Fields et al., 1990, Int. J. Peptide Protein Res, 35, 161-214). La síntesis química puede realizarse mediante métodos bien conocidos en la técnica que implican conjuntos cíclicos de reacciones de desprotección selectiva de los grupos funcionales de un aminoácido terminal y el acoplamiento de residuos de aminoácidos selectivamente protegidos, seguido finalmente por la desprotección completa de todos los grupos funcionales.

La síntesis puede realizarse en solución o sobre un soporte sólido usando fases sólidas adecuadas conocidas en la técnica.

Como los péptidos de la invención están destinados para su uso en composiciones farmacéuticas, se entenderá fácilmente que cada uno de ellos se proporciona preferiblemente en forma sustancialmente pura, por ejemplo al menos 60% pura, más adecuadamente al menos 75% pura y preferiblemente al menos 85%, especialmente al menos 98% pura (los porcentajes en peso). Las preparaciones impuras de los compuestos pueden usarse para preparar las formas más puras usadas en las composiciones farmacéuticas; estas preparaciones menos puras de los compuestos deben contener al menos 1%, más adecuadamente al menos 5% y preferiblemente de 10 a 59% de un compuesto de la invención.

En una realización alternativa, un péptido de la invención puede producirse a partir de o administrarse en la forma de un polinucleótido que lo codifica y es capaz de expresarlo. Tales polinucleótidos pueden sintetizarse de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica, tal como se describe a modo de ejemplo en Sambrook et al., (1989, Molecular Cloning – A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor Press). Tales polinucleótidos pueden usarse *in vitro* o *in vivo* en la producción de un péptido de la invención. Tales polinucleótidos pueden, por lo tanto, administrarse o usarse en el tratamiento del cáncer u otra enfermedad o afección como se describe en el presente documento.

La presente invención también incluye vectores de expresión que comprenden tales secuencias de polinucleótidos. Dichos vectores de expresión se construyen rutinariamente en la técnica de la biología molecular y pueden implicar, por ejemplo, el uso de ADN plasmídico e iniciadores, promotores, potenciadores y otros elementos apropiados, tales como por ejemplo señales de poliadenilación que pueden ser necesarias y que se colocan en la orientación correcta, para permitir la expresión de un péptido de la invención. Otros vectores adecuados serían evidentes para los expertos en la técnica. A modo de ejemplo adicional a este respecto, nos referimos a Sambrook et al (ibídem).

Por lo tanto, el péptido puede proporcionarse suministrando dicho vector a una célula y permitiendo que ocurra la transcripción del vector. Adecuadamente, un polinucleótido de la invención o para uso en la invención en un vector está operativamente unido a una secuencia de control que es capaz de proporcionar la expresión de la secuencia codificante por la célula huésped, es decir, el vector es un vector de expresión. El término "operativamente unido" se refiere a una yuxtaposición en la que los componentes descritos están en una relación que les permite funcionar de la manera prevista. Una secuencia reguladora, tal como un promotor, "operativamente unido" a una secuencia codificante se coloca de tal manera que la expresión de la secuencia codificante se logra en condiciones compatibles con la secuencia reguladora.

Los vectores pueden ser, por ejemplo, vectores de plásmidos, virus o fagos provistos de un origen de replicación, opcionalmente un promotor para la expresión de dicho polinucleótido y opcionalmente un regulador del promotor. Los vectores pueden contener uno o más genes marcadores seleccionables, por ejemplo, un gen de resistencia a ampicilina en el caso de un plásmido bacteriano o un gen de resistencia para un vector fúngico. Los vectores pueden

usarse *in vitro*, por ejemplo para la producción de ADN o ARN o usarse para transfectar o transformar una célula huésped, por ejemplo, una célula huésped de mamífero. Los vectores también pueden adaptarse para usarse *in vivo*, por ejemplo para permitir la expresión *in vivo* del polipéptido.

Los promotores y otras señales de regulación de la expresión pueden seleccionarse para que sean compatibles con la célula huésped para la que está diseñada la expresión. Por ejemplo, los promotores de levadura incluyen los promotores GAL4 y ADH, de *S. cerevisiae,* nmt1 de *S. pombe* y el promotor adh. Se pueden usar promotores de mamíferos, tales como promotores de b-actina. Los promotores específicos de tejido son especialmente preferidos. Los promotores de mamíferos incluyen el promotor de metalotioneína que puede inducirse en respuesta a metales pesados tales como el cadmio. También se pueden usar promotores virales, por ejemplo, el promotor del antígeno T grande de SV40, los promotores de adenovirus, la repetición terminal larga del virus de la leucemia murina de Moloney (LTR de MMLV), el promotor LTR del virus del sarcoma de Rous (RSV), el promotor de SV40, el promotor IE de citomegalovirus humano (CMV), adenovirus, promotores de HSV (tal como los promotores IE de HSY) o promotores de HPV, particularmente la región reguladora secuencia arriba (URR) del VPH. Todos estos promotores están fácilmente disponibles en la técnica.

La invención también incluye células que se han modificado para expresar un péptido de la invención. Dichas células incluyen líneas celulares eucariotas superiores transitorias, o preferiblemente estables, tales como células de mamífero o células de insecto, células eucariotas inferiores, tales como células de levadura o células procariotas tales como células bacterianas. Los ejemplos particulares de células que pueden modificarse mediante la inserción de vectores que codifican un péptido de la invención incluyen células de mamífero HEK293T, CHO, HeLa y COS. Adecuadamente, la línea celular seleccionada será una que no solo sea estable, sino que también permita la glicosilación madura y la expresión de un polipéptido en la superficie celular. La expresión se puede lograr en ovocitos transformados. Un péptido adecuado puede expresarse en células de un animal no humano transgénico, en particular un ratón. Un animal no humano transgénico que expresa un péptido de la invención está incluido dentro del alcance de la invención. Un péptido de la invención también puede expresarse en ovocitos o melanóforos de *Xenopus laevis*.

La presente invención también se extiende a anticuerpos (monoclonales o policlonales) y sus fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, fragmentos $F(ab)_2$, Fab y Fv, es decir, fragmentos de la región "variable" del anticuerpo, que comprende el sitio de unión a antígeno) dirigidos a péptidos como se definió en el presente documento anteriormente, es decir, que se unen a epítopos presentes en los péptidos y, por lo tanto, se unen selectiva y específicamente a dichos péptidos, y que pueden usarse en los métodos de la invención.

Los péptidos de la invención, como se describió anteriormente, pueden bloquear específicamente la interacción entre PBX y HOX. Los péptidos de la invención pueden eliminar o reducir la proliferación de una variedad de tipos de células cancerosas. Acompañando a estos cambios, se puede observar una subregulación de varios objetivos HOX conocidos. Como se describe con más detalle a continuación, los péptidos de la invención pueden por lo tanto tener usos terapéuticos en el tratamiento de cánceres en los que se expresan los genes Hox, como agentes citoprotectores durante otras terapias contra el cáncer o en la protección *ex vivo* de cultivos de células madre.

Los péptidos descritos anteriormente pueden usarse para bloquear las interacciones de PBX con sus compañeros de unión, por ejemplo HOX, y preferiblemente evitan así la unión de HOX a su ADN objetivo. Por lo tanto, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un péptido como se describe en el presente documento para reducir o inhibir la unión de PBX a un compañero de unión, en particular HOX, o el uso de tales péptidos para reducir o inhibir la unión de HOX a su ADN objetivo.

"PBX" se refiere a los productos proteicos de la familia de genes relacionados con la transformación de células pre-B e incluye genes que codifican proteínas de homeoproteína de extradentícula y homólogos del gen de extradentícula de Drosophila, tales como genes en vertebrados. Las proteínas PBX de vertebrados son factores de transcripción que contienen una homeodominio (Mann et al., 1996).

"HOX" se refiere a productos proteicos de los genes homeobox que contienen una secuencia que codifica un homeodominio de aproximadamente 60 aminoácidos y una secuencia que codifica la secuencia del hexapéptido del terminal N con el homeodominio (Morgan et al., 2000, TIG , 16 (2), páginas 66-67 y Krumlauf, 1994, Cell, 78 (2), páginas 191-201). Las proteínas HOX son factores de transcripción que actúan para definir el desarrollo anteroposterior en el desarrollo temprano. Tales genes o proteínas PBX o HOX como se describe en el presente documento incluyen homólogos presentes en cualquier animal multicelular, pero son adecuadamente de vertebrados, por ejemplo de mamíferos, en particular de humanos.

Como se hace referencia en el presente documento, "unión" se refiere a la interacción o asociación de al menos dos fracciones en una reacción reversible o irreversible, en la que dicha unión es adecuadamente específica y selectiva.

Como se usa en el presente documento, un "compañero de unión" se refiere a una molécula que reconoce y se une específicamente (es decir, con preferencia a la unión con otras moléculas) a su compañero de unión. Dichos pares de unión cuando se unen forman un complejo.

Una "reducción en la unión" se refiere a una disminución en la unión, por ejemplo como se manifiesta por una mayor concentración de uno de los pares de unión necesarios para lograr la unión. La reducción incluye una ligera

disminución, así como la abrogación absoluta de la unión específica. Se considera que una reducción total de la unión específica equivale a una prevención de la unión.

"Inhibición" se refiere a la interferencia competitiva de la unión de los compañeros de unión por el péptido, que sirve para reducir la unión de los compañeros.

Se ha encontrado que los agentes que previenen o reducen la regulación de la transcripción dependiente de PBX tienen efectos ventajosos sobre la división celular aberrante (solicitud internacional de patente PCT/GB2003/005425 publicada como WO2004/055049 el 1 de julio de 2004 y solicitud internacional de patente PCT/GB2006/002390 publicado como WO2007/00601 el 4 de enero de 2007).

Tales agentes son típicamente aquellos que evitan, reducen o inhiben la unión de PBX a sus compañeros de unión, en particular la unión entre PBX y HOX (tales como antagonistas de la interacción entre HOX y PBX, por ejemplo, los péptidos descritos anteriormente). Sin embargo, los agentes adecuados también incluyen aquellos que afectan la unión de los factores de transcripción al ADN objetivo, por ejemplo que bloquean la interacción de PBX o su compañero de unión, tal como HOX, al ADN objetivo. Adecuadamente, dichos agentes evitan la regulación de la transcripción dependiente de HOX.

Si bien no se desea limitarse a la teoría, se cree que los antagonistas de la unión de HOX:PBX evitan la interacción entre múltiples compañeros de unión importantes de la proteína HOX:PBX y, por lo tanto, las proteínas HOX no pueden actuar como factores de transcripción en los genes a lo que se unen. El hecho de no regular la expresión de estos genes puede tener numerosos efectos en las células, por ejemplo, reducir o prevenir la división celular excesiva e inducir la muerte celular. Del mismo modo, cualquier fracción que prevenga o reduzca la regulación de la transcripción dependiente de PBX, por ejemplo bloquee la interacción de HOX con su ADN objetivo, puede esperarse que tenga efectos similares.

Los agentes que son adecuados para este propósito incluyen antagonistas de la interacción entre HOX y/o PBX y el ADN objetivo al que se unen, antagonistas de la interacción entre PBX y sus compañeros de unión, típicamente proteínas HOX, o agentes que perjudican la capacidad de unión de HOX/PBX o el ADN objetivo, por ejemplo que bloquean sitios relevantes o causan cambios estructurales en sitios relevantes en HOX/PBX o el ADN objetivo o reducen el número de moléculas disponibles para la unión (que puede lograrse modificando, por ejemplo, la expresión/producto expresado de PBX/HOX). Sin embargo, adecuadamente, se emplean antagonistas. Los agentes adecuados son los péptidos de la invención como se describió anteriormente.

En un aspecto adicional, por lo tanto, la presente invención proporciona un método para reducir la división celular aberrante en el que a dichas células se les administra un péptido de la invención, en adelante denominado alternativamente "agente de la invención" que previene o reduce la regulación de la transcripción dependiente de PBX, adecuadamente que reduce o evita la unión de PBX a un compañero de unión, preferiblemente a HOX (adecuadamente HOXB4, HOXB8 o HOXA9) o reduce o evita la unión de HOX a su ADN objetivo, adecuadamente un antagonista, adecuadamente un antagonista de la interacción entre HOX y PBX, y que inhibe adecuadamente la regulación de la transcripción dependiente de HOX.

Como se describe en el presente documento, "división celular aberrante" se refiere a la división celular por encima del nivel normal (es decir, división celular anormal) considerada apropiada en las condiciones que existen. Los marcadores de la división celular aberrante son bien conocidos por los expertos en la técnica y pueden usarse para determinar si una célula particular ha sido afectada. Por ejemplo, las células que sufren división celular aberrante pueden mostrar citología atípica, por ejemplo, pleomorfismo celular, pleomorfismo nuclear, hipercromatismo nuclear o una relación citoplasmática nuclear aumentada. Las células que experimentan una división celular aberrante pueden mostrar una falla en la diferenciación celular. Más particularmente, dicha división celular aberrante puede estar presente en ciertas afecciones o enfermedades/trastornos como se describe más adelante, tal como un cáncer.

La "reducción" de la división celular se refiere a la reducción de la tasa de crecimiento celular. Adecuadamente, el crecimiento celular se reduce a menos de 0.5, en particular a menos de 0.25, por ejemplo menos de 0.1 en relación con el crecimiento del control (sin el agente) durante el mismo período de tiempo (en el que el crecimiento de control = 1). Adecuadamente, la división celular reducida abarca la muerte celular/falta de viabilidad que puede ocurrir además, o como una alternativa a la reducción en el crecimiento celular. Cuando la muerte celular ocurre adecuadamente, más del 50% de las células existentes, en particular más del 75% de las células, se destruyen.

Al ajustar la dosis del agente utilizado también puede ser posible eliminar por completo algunas neoplasias malignas. Por lo tanto, los péptidos de la invención pueden usarse para retrasar el crecimiento de, o destruir completamente, las células cancerosas. Como se explica con más detalle a continuación, una dosis adecuada dependerá de varios factores y puede ser determinada por un profesional experto.

Como se describe en el presente documento, "regulación de la transcripción dependiente de PBX" se refiere a la activación o supresión de la transcripción de genes mediante procesos en los que PBX desempeña un papel fundamental, por ejemplo actúa como cofactor en los complejos reguladores de la transcripción.

La prevención o reducción se refiere a un cambio medible en el grado de transcripción.

La prevención equivale a una reducción en la transcripción a niveles indetectables.

"ADN objetivo" se refiere al gen que contiene la región reguladora a la que se une PBX, HOX o cualquier miembro del complejo de regulación de la transcripción que contiene tales proteínas.

Como se hace referencia en el presente documento, un "antagonista" es una molécula o complejo de moléculas que, en virtud de la similitud estructural con una molécula de un par de unión, compite con esa molécula para unirse a la otra molécula del par de unión.

Como se menciona específicamente en este documento, los antagonistas de la invención son antagonistas de la interacción entre HOX y PBX que evitan o reducen la unión entre esas entidades. Los antagonistas adecuados se unen o compiten con el sitio de unión en HOX o PBX. Típicamente, los antagonistas compiten imitando el sitio de unión de PBX en HOX, es decir, uniéndose a PBX.

Dichos métodos pueden realizarse *in vitro, in vivo* o *ex vivo*.

Teniendo en cuenta su capacidad para bloquear específicamente la interacción entre PBX y HOX e inhibir la división celular aberrante, los péptidos de la invención, en lo sucesivo denominados alternativamente "agentes de la invención", son útiles en el tratamiento o prevención de una afección o trastorno en el que ocurre la división celular aberrante, particularmente un cáncer.

El tratamiento de acuerdo con la invención puede ser sintomático o profiláctico.

Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención incluye un agente de la invención para uso como un producto farmacéutico.

Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional, la invención proporciona un agente de la invención para tratar o prevenir una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante.

Por lo tanto, de acuerdo con otro aspecto, la invención proporciona el uso de un agente de la invención en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante.

Por lo tanto, de acuerdo con otro aspecto, la invención proporciona un método para prevenir o tratar una afección o trastorno en el que la división celular aberrante que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de la invención.

De acuerdo con lo anterior, la invención también proporciona como un aspecto adicional un método para prevenir o tratar una afección o trastorno en el que se produce la división celular aberrante, particularmente cáncer, que comprende administrar a un sujeto, particularmente un sujeto humano, que lo requiera, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona un agente de la invención para prevenir o tratar una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, particularmente cáncer.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un agente de la invención en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, particularmente cáncer.

Como se menciona en el presente documento, un "trastorno" o una "enfermedad" se refiere a una alteración patológica subyacente en un organismo sintomático o asintomático en relación con un organismo normal, que puede resultar, por ejemplo, de una infección o una imperfección genética adquirida o congénita .

Una "afección" se refiere a un estado de la mente o el cuerpo de un organismo que no ha ocurrido a través de una enfermedad, por ejemplo, la presencia de una fracción en el cuerpo, tal como una toxina, un fármaco o un contaminante.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar", "que se trata" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización a mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos del mismo). En otra realización, "tratar", "que se trata" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico que incluye aquellos que pueden no ser discernibles por el paciente. En otra realización más, "tratar", "que se trata" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización más, "tratar", "que se trata" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar el inicio o desarrollo o progresión de la enfermedad o trastorno. Por ejemplo, los síntomas que pueden verse afectados incluyen el tamaño del tumor o el número de células cancerosas en una muestra dada (o el número reducido de células madre como se describe más adelante).

La "prevención" de una afección o trastorno se refiere a retrasar o prevenir la aparición de una afección o trastorno o

reducir su gravedad, de acuerdo con lo evaluado por la aparición o extensión de uno o más síntomas de dicha afección o trastorno.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, pájaros y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En otras realizaciones más, el sujeto es un humano.

Como se usa en el presente documento, un sujeto "necesita" un tratamiento si dicho sujeto se beneficia biológicamente, médicamente o en calidad de vida de dicho tratamiento.

El término "una cantidad terapéuticamente eficaz" de un agente de la invención se refiere a una cantidad del agente de la invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de una enzima o una actividad de la proteína, o mejora los síntomas, alivia afecciones, ralentiza o retrasa la progresión de la enfermedad, o previene una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del agente de la invención que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar al menos parcialmente una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del agente de la invención que, cuando se administra a una célula, o un tejido, o un material biológico no celular, o un medio, es eficaz para reducir al menos parcialmente la división celular aberrante.

Como alternativa a la realización de los métodos *in vivo*, dichos métodos pueden realizarse *in vitro*, por ejemplo para reducir la división celular de, o eliminar, las células que experimentan un crecimiento celular aberrante, en una muestra. Las condiciones de cultivo apropiadas son como se describen para otros métodos de la invención como se describe más adelante.

Esto es particularmente útil en muestras de células que contienen células normales y aberrantes en las que las células aberrantes pueden controlarse/eliminarse y la muestra que contiene las células normales se usa para procedimientos posteriores, por ejemplo regresó al cuerpo del donante. Esto puede ser útil para, por ejemplo, eliminar las células sanguíneas hematopoyéticas aberrantes de una muestra de sangre de un paciente, por ejemplo células leucémicas, y las células restantes pueden ser devueltas al cuerpo de ese paciente.

Por lo tanto, en otro aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para reducir la división celular aberrante (en particular, para reducir el crecimiento, más particularmente que implica la muerte y, por lo tanto, para reducir el número de células cancerosas) en las células de una muestra, en el que un agente de la invención como se describió en el presente documento anteriormente se administra a dicha muestra. En un método para tratar pacientes que padecen un trastorno o afección tipificada por división celular aberrante (o que previene la misma), dicha muestra puede recogerse de dicho paciente y luego devolverse a ese paciente como se describe más adelante. En este contexto, una "muestra" se refiere a cualquier material obtenido de un animal humano o no humano, incluidas las etapas embrionarias, fetales, inmaduras y adultas de dicho animal, que contiene células sometidas a división celular aberrante e incluye tejidos y fluidos corporales.

Los "fluidos corporales" en este caso incluyen en particular sangre, líquido cefalorraquídeo y linfa y "tejidos" incluyen tejido obtenido mediante cirugía u otros medios.

Adecuadamente, la división celular aberrante ocurre en células de organismos eucariotas que pueden ser organismos eucariotas tales como seres humanos, otros mamíferos y animales, pájaros, insectos y peces.

Los animales no humanos de los que se pueden derivar células o sobre los cuales se pueden llevar a cabo los métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, mamíferos, particularmente primates, animales domésticos, ganado y animales de laboratorio. Por lo tanto, los animales incluyen ratones, ratas, pollos, ranas, cobayas, gatos, perros, cerdos, vacas, cabras, ovejas, caballos. Adecuadamente, las células se derivan de ellos y los métodos se utilizan para tratar o ser profilácticos en humanos.

En particular, las células que sufren división celular aberrante son células cancerosas y el trastorno a tratar o prevenir es un cáncer. Los cánceres que pueden tratarse de esta manera son aquellos cánceres que implican la expresión de genes HOX y PBX, en los que la expresión del dímero HOX/PBX se reduce por la actividad de un péptido de la invención, bloqueando así el crecimiento, reduciendo la proliferación de, o conduciendo directamente a la muerte de las células cancerosas.

En una realización adicional, el péptido de la invención puede actuar sobre las células cancerosas para moverlas de un estado inactivo al ciclo celular y así hacerlas más susceptibles a otros tratamientos, por ejemplo tratamientos citotóxicos contra el cáncer.

De manera adecuada, dicha célula a tratar expresa uno o más genes Hox. Por ejemplo, dicha célula puede expresar uno o más de HOXA1, HOXA3, HOXA4, HOXA5, HOXA7, HOXA9, HOXB1, HOXB2, HOXB3, HOXB4, HOXB8, HOXB9, HOXC4, HOXC6, HOXC8, HOXD3, HOXD4, HOXD8, y HOXD9. Dicha célula puede expresar uno o más de HOXB4, HOXB8 y HOXA9. Es posible que el nivel de expresión del gen Hox en la célula pueda estar directamente

relacionado con la sensibilidad de la célula a los péptidos de la invención. Por lo tanto, los péptidos de la invención serían más efectivos en el tratamiento de células que muestran altos niveles de expresión del gen HOX, por ejemplo, niveles más altos de expresión del gen HOX que en el tejido circundante o niveles más altos de expresión del gen HOX que el de otros tipos de cáncer en los que la célula es una célula cancerosa. Por lo tanto, los métodos de la invención pueden ser particularmente adecuados cuando las células a tratar muestran tales niveles aumentados o más altos de expresión del gen HOX.

De manera adecuada, dichos cánceres son tumores malignos o premalignos o benignos e incluyen carcinomas, sarcomas, gliomas, melanomas y linfomas, que incluyen cánceres de vejiga, riñón, páncreas, cerebro, cabeza y cuello, mama, intestino, próstata, pulmón y ovario y leucemias y linfomas. En particular, cánceres colorrectal, pancreático, de vejiga, próstata, cervical, de ovario, gástrico y de pulmón células no pequeñas.

Una afección o trastorno caracterizado por una división celular aberrante es un cáncer, que incluye, pero no se limita a, mesotelioma, hepatobiliar (conducto hepático y biliar), un tumor primario o secundario del SNC, un tumor cerebral primario o secundario, cáncer de pulmón (NSCLC y SCLC), cáncer de hueso, cáncer de páncreas, melanoma y cáncer de piel no melanomatoso, cáncer de cabeza o cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, gastrointestinal (gástrico, colorrectal y duodenal), tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de mama, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cuello uterino, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejido blando, cartílago o hueso, cáncer de la uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, cáncer testicular, linfoma testicular, leucemia crónica o aguda, leucemia mieloide crónica, linfomas linfocíticos, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de la pelvis renal, neoplasias del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, linfoma no Hodgkin, tumores del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma pituitario, cáncer adrenocortical, cáncer de vesícula biliar, mieloma múltiple, colangiocarcinoma, fibrosarcoma, neuroblastoma, retinoblastoma o una combinación de uno o más de los cánceres anteriores.

En una realización de la presente invención, el cáncer es cáncer de pulmón (NSCLC y SCLC), melanoma, cáncer de cabeza o cuello, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de mama, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de pelvis renal, cáncer de glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, neoplasias del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, linfoma no Hodgkin, o tumores del eje espinal, o una combinación de uno o más de los cánceres anteriores.

En una realización particular, el cáncer es cáncer de pulmón (NSCLC y SCLC), melanoma, cáncer de cabeza o cuello, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon o carcinoma de células renales.

En otra realización, dicha afección o trastorno en el que se produce la división celular aberrante es una enfermedad proliferativa benigna, que incluye, pero no se limita a, psoriasis, hipertrofia prostática benigna o restenosis.

En una realización, dicha afección o trastorno en el que se produce la división celular aberrante es la mielodisplasia (MDS).

En algunos cánceres, por ejemplo, algunas formas de leucemia de células pre-B humanas, PBX puede actuar como un oncogén. Los efectos de PBX en tales cánceres serán diferentes a los de otros tipos de cáncer en los que PBX no es un oncogén. Por lo tanto, los efectos de un péptido de la invención también pueden ser diferentes.

En una realización, por lo tanto, la presente invención no se aplica a tales cánceres porque el efecto de un péptido de la invención será a través de un mecanismo diferente al efecto PBX:HOX descrito anteriormente. Por lo tanto, en esta realización, un péptido de la invención puede usarse en el tratamiento o prevención de un cáncer u otro trastorno en el que se produce una división celular aberrante, y en el que PBX no actúa como un oncogén. Adecuadamente, las células cancerosas expresan uno o más genes Hox. Por ejemplo, un cáncer adecuado para el tratamiento mediante un método de la invención puede ser una leucemia distinta de la leucemia de células pre-B humanas.

En algunos cánceres, tales como la leucemia mieloide aguda (AML), los péptidos de la invención pueden bloquear la proliferación de las células cancerosas, pero también pueden estimular a esas células para que abandonen el estado inactivo G0/G1 y entren en el ciclo celular. Estos dos efectos se ven en las mismas células bajo las mismas condiciones. Es probable que esto se deba a que las células se activan para dejar G0/G1 por el péptido (es decir, ingresar al ciclo celular) pero luego no se dividen y, en cambio, se diferencian o experimentan apoptosis. Los péptidos de la invención pueden usarse en el tratamiento de AML primaria y leucemias mieloides maduras. Esto sugiere una utilidad específica para los péptidos de la invención en leucemias mieloides y linfoides agudas. Por lo tanto, el bloqueo de las interacciones PBX/HOX en estas células usando un péptido de la invención puede formar un tratamiento eficaz para prevenir el crecimiento celular de leucemia *in vivo*. Además, al aumentar la proporción de células leucémicas que ingresan al ciclo celular, los péptidos de la invención también pueden aumentar su sensibilidad a otros tratamientos contra el cáncer, como la quimioterapia. Por lo tanto, los péptidos de la invención pueden usarse en combinación con otro tratamiento contra el cáncer como se describe más adelante.

También se ha encontrado que los agentes que previenen o reducen la regulación de la transcripción dependiente de PBX tienen efectos beneficiosos sobre las células madre.

Las "células madre" a las que se hace referencia en el presente documento son células indiferenciadas que son capaces de diferenciarse en varias células, por ejemplo varios tipos de células sanguíneas, e incluyen células hematopoyéticas (por ejemplo, que se encuentran en la médula ósea) y células madre neurales y hepáticas, y abarcan tanto células pluripotentes como totipotentes. Adecuadamente, las células se derivan de organismos eucariotas como se describió anteriormente.

La prevención de la regulación de la transcripción mediada por PBX da como resultado una división celular reducida, pero continua, y la aparición de marcadores moleculares de diferenciación (por ejemplo, CD38). Sin embargo, al eliminar el agente que bloquea esa regulación transcripcional, las células vuelven a ser células madre de acuerdo con lo evaluado por la aparición de marcadores moleculares (por ejemplo, HOXB4, HOXB8, HOXA9, AC133), lo que refleja la pluripotencia de las células (solicitud internacional de patente PCT/GB2006/002390 publicada como WO2007/00601 el 4 de enero de 2007). Si bien no se desea limitarse a la teoría, se cree que a pesar de la aparición de marcadores de diferenciación/maduración, no se producen cambios fenotípicos sintomáticos de diferenciación y las células tienen una tasa significativamente reducida del ciclo celular mientras se administra el agente. Al eliminar el agente, las células volvieron a convertirse en células madre.

También se cree que el tratamiento de células madre y progenitoras hematopoyéticas pluripotentes (HSPC) con un péptido de la invención puede bloquear su proliferación y aumentar la proporción de células en la fase G0-G1 del ciclo celular. La longevidad de los cultivos confirma los efectos de las células madre putativas, así como las poblaciones progenitoras más diferenciadas. La especificidad de este efecto inhibitorio sobre estos objetivos génicos está subrayada por su reversibilidad, con la transcripción génica y el crecimiento celular que se reanuda al eliminar el péptido.

Estos resultados tienen una serie de aplicaciones que incluyen el mantenimiento o la expansión de células madre (por ejemplo, en cultivo), por ejemplo para el almacenamiento temporal de dichas células, con posible expansión durante ese período de almacenamiento. Dichas células pueden usarse, por ejemplo, en aplicaciones clínicas en las que es deseable la adición de células madre, por ejemplo a pacientes que tienen un número reducido de células madre y/o la capacidad de producir ciertos tipos de células diferenciadas, debido, por ejemplo, a la edad, enfermedad (por ejemplo, cánceres o enfermedad autoinmune), factores congénitos, influencias o contaminantes ambientales y/o productos químicos administrados. En particular, las células madre pueden extraerse de un paciente antes de la quimioterapia o radioterapia y mantenerse y/o expandirse y devolverse a ese paciente después de la quimioterapia o radioterapia.

Como un ejemplo alternativo, las células madre pueden usarse para proporcionar células a partir de las cuales se puede formar una célula diferenciada particular, por ejemplo células neuronales, particularmente en receptores adultos en los que tales células madre adecuadas están ausentes o solo están presentes en niveles bajos. El receptor de las células madre también es adecuadamente el donante, pero también puede ser un individuo diferente. Por lo tanto, los péptidos de la invención pueden usarse para proteger el tejido explantado que contiene células madre (por ejemplo, células de médula ósea) durante el cultivo *in vitro* o *ex vivo*.

Las células también pueden mantenerse *ex vivo* o *in vivo*, por ejemplo para mantener la viabilidad durante el tratamiento que normalmente podría afectar su viabilidad, por ejemplo durante la quimioterapia o radioterapia.

Los agentes como se describe en el presente documento, es decir, los péptidos de la invención, se pueden usar para reducir la susceptibilidad de las células madre al daño por dichos tratamientos al detener o ralentizar temporalmente el ciclo celular de las células madre. Por ejemplo, los péptidos de la invención pueden reducir los efectos secundarios causados por otros tratamientos contra el cáncer, por ejemplo choque citotóxico asociado con muchos regímenes quimioterapéuticos. El efecto citoprotector de los péptidos de la invención sobre las células madre *in vivo* también puede permitir que se usen niveles o dosis más altas de los tratamientos contra el cáncer debido a la disminución de los efectos secundarios producidos. Por ejemplo, puede ser posible una dosis más alta de quimioterapia o radioterapia.

Por lo tanto, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para mantener o expandir células madre, en el que dicho método comprende al menos la etapa de poner en contacto las células con un agente de la invención como se describió en el presente documento anteriormente, adecuadamente un antagonista, adecuadamente un antagonista de la interacción entre HOX y PBX. Este método puede usarse para mantener la pluripotencia totipotencia de las células madre.

Adecuadamente, este método se realiza *in vitro* o *ex vivo*, en cultivo, en cuyo caso el método puede contener una etapa inicial de recolección de células madre de un donante. Sin embargo, el método también puede usarse *in vivo* para mantener o mejorar el número de células madre en un individuo, especialmente durante la exposición a agentes o tratamientos que pueden causar daño a las células madre. En tales circunstancias, la presente invención proporciona un método para mantener o expandir células madre en un paciente en el que a dicho paciente se le administra un agente de la invención, adecuadamente un antagonista, adecuadamente un antagonista de la interacción entre HOX y PBX.

"Mantener" las células se refiere a mantener la viabilidad de una gran proporción de las células de partida, por ejemplo

las recolectadas, con división celular mínima, durante el curso del tratamiento o el período de cultivo.

La "expansión" de las células se refiere a al menos a alguna división celular, adecuadamente división celular significativa, para aumentar el número de células durante el curso del tratamiento o cultivo.

Como se hace referencia en el presente documento "cultivo" se refiere al crecimiento o mantenimiento de las células en un entorno artificial controlado, es decir, *ex vivo*. Las técnicas estándar para el cultivo de células son bien conocidas. Adecuadamente, las células se cultivan a 37 °C, 5% de CO_2 en una atmósfera humidificada en un medio de cultivo estándar. Adecuadamente dicho cultivo se realiza durante al menos 2 horas, adecuadamente más de 24 horas; por ejemplo, entre 24 horas y 8 semanas.

"Poner en contacto" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier técnica adecuada que permita que el agente tenga acceso y, por lo tanto, la posibilidad de unirse a las células en la muestra, por ejemplo por aplicación al medio de cultivo.

Después de que las células se han mantenido o expandido, el agente se puede eliminar para recuperar la pluripotencia o totipotencia. Cuando el método se realiza *in vivo*, esto se puede lograr al suspender la administración y permitir que el cuerpo elimine al agente. *In vitro* o *ex vivo*, el agente se elimina del medio de cultivo, por ejemplo por lavado y reemplazo con medio fresco. Alternativamente, el agente puede eliminarse permitiendo que se degrade naturalmente.

Por lo tanto, la invención proporciona un método para mantener o expandir las células madre y/u obtener células madre pluripotentes o totipotentes, en cultivo, adecuadamente una población expandida de dichas células, en el que dicho método comprende al menos los etapas de:

a) poner en contacto dichas células en cultivo con un agente de la invención, que reduce o evita la regulación de la transcripción dependiente de PBX como se describió anteriormente, adecuadamente un antagonista, adecuadamente un antagonista de la interacción entre HOX y PBX;

b) cultivar dichas células en ausencia de dicho agente.

Debe observar que el péptido se degrada en unos pocos días durante el cultivo y, por lo tanto, el péptido activo se agota. Por lo tanto, el etapa b) puede realizarse sin ningún lavado previo si ha transcurrido el tiempo suficiente para que ocurra la degradación. Como se mencionó anteriormente, los tiempos de cultivo son de al menos 2 horas, adecuadamente más de 24 horas, por ejemplo, entre 24 horas y 8 semanas.

El método puede contener una etapa inicial de recolección de células madre de un donante.

Las células obtenidas por este y otros métodos de la invención comprenden aspectos específicos de la invención, al igual que su uso como medicamento.

Las células así preparadas por los métodos *in vitro* o *ex vivo* descritos anteriormente pueden administrarse luego a un individuo que necesita tales células madre. Opcionalmente, las células pueden modificarse antes del trasplante, por ejemplo durante el curso del cultivo o justo antes del trasplante, por ejemplo por modificación genética, por ejemplo para la transferencia de genes o para importar una función que no estaba presente previamente en dichas células, por ejemplo para compensar un déficit genético, por ejemplo proporcionando un factor faltante, por ejemplo adenosina desaminasa (ADA).

Por lo tanto, en otro aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para tratar a un individuo que necesita células madre en el que las células madre preparadas de acuerdo con el método descrito anteriormente se administran a dicho individuo.

De manera adecuada, dicho individuo que necesita dichas células madre es un individuo que tiene (o tendrá) niveles de dichas células más bajos de lo normal o deseables, condición que puede existir normalmente, por ejemplo a través de la edad o como resultado de factores externos, por ejemplo a través de quimioterapia o radioterapia. Adecuadamente, dichas células madre se derivan del individuo receptor.

Por lo tanto, la presente invención proporciona un método para mejorar el número de células madre en un individuo receptor en el que dicho método comprende al menos las etapas de:

a) recolectar células madre de un donante,

b) cultivar dichas células madre de acuerdo con los métodos descritos anteriormente;

c) administrar dichas células madre cultivadas a dicho individuo receptor.

Adecuadamente, el método es un método para mejorar el número de células madre en un paciente sometido a quimioterapia o radioterapia, en el que dicho método comprende al menos las etapas de:

a) recolectar células madre de dicho paciente antes de la quimioterapia o radioterapia,

b) cultivar dichas células madre de acuerdo con los métodos descritos anteriormente en el presente documento;

c) administrar dichas células madre cultivadas a dicho paciente después de completar la quimioterapia o radioterapia.

Alternativamente, la etapa de recolección a) en los métodos anteriores puede estar ausente y la etapa b) puede comprender el cultivo de células madre recogidas del donante de acuerdo con los métodos descritos anteriormente en el presente documento. Dichas células pueden recogerse obteniendo una muestra de células, tejido o fluido corporal de dicho donante y opcionalmente extrayendo las células de allí.

Como se usa en el presente documento, una "muestra" se refiere a cualquier material obtenido del donante, por ejemplo animal humano o no humano, incluidas las etapas embrionarias, fetales, inmaduras y adultas de dicho animal, que contiene células madre e incluye tejidos y fluidos corporales.

Los "fluidos corporales" incluyen sangre y líquido cefalorraquídeo

Las "muestras de tejido" incluyen tejido obtenido mediante intervenciones quirúrgicas (por ejemplo, médula ósea o hígado) o por otros medios, por ejemplo placenta y cordón umbilical. Los animales de los que se derivan las células o a los que se aplican los métodos son preferiblemente como se describió anteriormente en relación con los métodos para reducir la división celular aberrante.

Como se usa en el presente documento, la referencia a "mejorar el número de células madre" se refiere a aumentar el número de células madre a añadir (adecuadamente del tipo particular a añadir, por ejemplo, células madre hematopoyéticas) en relación con el número presente en el individuo en el momento en el que ocurriría la administración. Por lo tanto, en el caso de un paciente sometido a quimioterapia o radioterapia, la mejora observada es en el número de células madre en un paciente después de la quimioterapia o la radioterapia. Una mejora también puede consistir en la adición de ciertas células madre previamente ausentes o presentes en números muy bajos, por ejemplo células madre neuronales.

Alternativamente, la presente invención proporciona un agente de la invención para el tratamiento o prevención de afecciones o trastornos tipificados por la necesidad de células madre, adecuadamente en el tratamiento o prevención de afecciones o trastornos en los que el número de células madre es inferior a lo normal, por ejemplo debido a quimioterapia o radioterapia, o en condiciones en las que la provisión de células madre puede permitir la producción de una o más células diferenciadas particulares que están ausentes o presentes en números anormalmente bajos, o números más bajos de lo deseado, en el sitio de interés.

Las afecciones o trastornos en los que el número de células madre son inferiores a lo normal incluyen trastornos autoinmunes, radioterapia, quimioterapia y ciertas infecciones virales. Las condiciones en las que el uso de células madre por trasplante puede proporcionar células diferenciadas apropiadas que están ausentes o presentes en niveles inferiores a lo normal o inferior a lo deseado incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y otros trastornos o afecciones relacionadas con la edad (incluidos los tratamientos cosméticos), esclerosis múltiple, lesión de la médula espinal, diabetes, enfermedad cardíaca crónica, enfermedad renal en etapa terminal, insuficiencia hepática y en el que las células madre se utilizan para reemplazar las células destruidas o disfuncionales. La prevención de tales afecciones o trastornos se puede lograr manteniendo las células madre en un estado protegido mediante el uso de un agente de la invención.

La presente invención proporciona además células preparadas por los métodos descritos anteriormente para el tratamiento de afecciones o trastornos tipificados por la necesidad de células madre, tal como se describió anteriormente.

Cabe señalar que debido a los efectos de los agentes antes mencionados sobre la división celular aberrante, incluso se pueden usar muestras de células madre que contengan tales células aberrantes y se puede lograr un doble efecto de reducir la división aberrante mientras se expanden las células madre. Por lo tanto, los agentes antes mencionados pueden usarse *in vitro, ex vivo* o *in vivo* para proteger las células madre/progenitoras normales mientras se eliminan las células que experimentan un crecimiento celular aberrante. Esto es particularmente aplicable a las células hematopoyéticas, por ejemplo cuando se trata la leucemia/linfoma.

Por lo tanto, en un aspecto particular, la presente invención proporciona un método para tratar o prevenir una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, por ejemplo, un cáncer, en un sujeto humano o no humano, en el que dicho método comprende administrar un agente de la invención, en el que dicho agente es capaz de reducir dicha división celular aberrante y mantener o expandir las células madre de dicho sujeto.

Como se describió anteriormente, los agentes de la invención, que reducen o evitan la regulación de la transcripción dependiente de PBX, particularmente los antagonistas de HOX:PBX, tienen diversas aplicaciones clínicas y, por lo tanto, un aspecto adicional de la invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen agentes de la invención. El uso de estos agentes como medicamento forma un aspecto adicional de la invención.

Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente de la invención, que reduce o previene la regulación de la transcripción dependiente de PBX como se describió

anteriormente, adecuadamente un antagonista, adecuadamente un antagonista de la interacción entre HOX y PBX, o un polinucleótido o vector capaz de expresar dicho péptido, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Composiciones farmacéuticas como se describe en el presente documento para su uso como medicamento, en particular para su uso en el tratamiento o prevención de trastornos o afecciones tipificadas por división celular aberrante, o trastornos o afecciones tipificados por la necesidad de células madre, tales como las afecciones descritas en el presente documento, y los métodos de tratamiento o profilaxis que usan tales composiciones y el uso de dichos agentes para la preparación de un medicamento para tratar o prevenir tales trastornos o afecciones, forman aspectos adicionales de la invención.

"Farmacéuticamente aceptable" como se menciona en el presente documento se refiere a ingredientes que son compatibles con otros ingredientes de las composiciones, así como fisiológicamente aceptables para el receptor.

Como se usa en el presente documento, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardadores de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, colorantes y similares, y combinaciones de los mismos, como lo conocen los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición Mack Printing Company, 1990, páginas 1289-1329). Excepto en la medida en que cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden formularse de manera convencional usando ingredientes fácilmente disponibles. Por lo tanto, el ingrediente activo (es decir, el péptido) puede incorporarse, opcionalmente junto con otras sustancias activas, con uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes convencionales, para producir preparaciones galénicas convencionales tales como tabletas, píldoras, polvos, pastillas, bolsitas, cápsulas lisas, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (tal como un sólido o en un medio líquido), ungüentos, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, soluciones inyectables estériles, polvos estériles envasados y similares.

La composición farmacéutica puede formularse para vías particulares de administración tales como administración oral, administración parenteral y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse en forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, tabletas, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluidas, entre otras, soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes o agentes tamponantes, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes y tampones, etc.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas son tabletas o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con

a) diluyentes, por ejemplo, lactosa, polilactona, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;

b) lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para tabletas también

c) aglutinantes, por ejemplo, silicato de aluminio y magnesio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si se desea

d) desintegrantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes; y/o

e) absorbentes, colorantes, saborizantes y edulcorantes.

Las tabletas pueden estar recubiertas con película o con recubrimiento entérico de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones adecuadas para administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención en forma de tabletas, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para uso oral se preparan de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Las tabletas pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas no están recubiertas o recubiertas por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción

en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionan una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

Ciertas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios se preparan ventajosamente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones pueden esterilizarse y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan de acuerdo con métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0.1-75%, o contienen aproximadamente 1-50%, del ingrediente activo.

Las composiciones adecuadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad efectiva de un agente de la invención con un vehículo adecuado. Los vehículos adecuados para el suministro transdérmico incluyen disolventes absorbibles farmacológicamente aceptables para ayudar en el paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos tienen la forma de un vendaje que comprende un elemento de respaldo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con vehículos, opcionalmente una barrera de control de velocidad para administrar el compuesto a la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada durante un período prolongado de tiempo y un medio para asegurar el dispositivo a la piel.

Las composiciones adecuadas para aplicación tópica, por ejemplo, en la piel y los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones atomizables, por ejemplo, para administración mediante aerosol o similares. Tales sistemas de administración tópica serán en particular apropiados para aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento del cáncer de piel, por ejemplo, para uso profiláctico en cremas solares, lociones, aerosoles y similares. Por lo tanto, son particularmente adecuados para su uso en formulaciones tópicas, incluidas cosméticos, bien conocidas en la técnica. Estos pueden contener solubilizantes, estabilizadores, agentes potenciadores de la tonicidad, tampones y conservantes.

Como se usa en el presente documento, una aplicación tópica también puede referirse a una inhalación o una aplicación intranasal. Se pueden administrar convenientemente en forma de un polvo seco (ya sea solo, como una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o una partícula de componentes mixtos, por ejemplo con fosfolípidos) desde un inhalador de polvo seco o una presentación atomizable en aerosol desde un recipiente presurizado, bomba, spray, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propulsor adecuado.

Las dosis de agentes de la invención empleadas en la práctica de la presente invención variarán, por supuesto, dependiendo, por ejemplo, de la condición particular a tratar, el efecto deseado y el modo de administración. En general, las dosis diarias adecuadas para la administración por inhalación son del orden de 0.0001 a 30 mg/kg, típicamente de 0.01 a 10 mg por paciente, mientras que para la administración oral las dosis diarias adecuadas son del orden de 0.01 a 100 mg/kg.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden los agentes de la invención tales como ingredientes activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención pueden prepararse usando ingredientes anhidros o con bajo contenido de humedad y condiciones de baja humedad. Se puede preparar y almacenar una composición farmacéutica anhidra de modo que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se envasan utilizando materiales conocidos para evitar la exposición al agua de modo que puedan incluirse en kits de formulaciones adecuadas. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, entre otros, láminas herméticamente selladas, plásticos, envases de dosis unitarias (por ejemplo, viales), envases de blíster y envases de tiras.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad por la cual el compuesto de la presente invención como ingrediente activo se descompondrá. Dichos agentes, a los que se hace referencia en el presente documento tales como "estabilizadores", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, tampones de pH o tampones salinos, etc.

El agente de la invención puede administrarse simultáneamente con, o antes o después, de uno o más de otros agentes terapéuticos. El agente de la invención puede administrarse por separado, por la misma o diferente ruta de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes.

En una realización, la invención proporciona un producto que comprende un agente de la invención y al menos otro agente terapéutico como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante. Los productos proporcionados como una preparación combinada incluyen una composición que comprende el agente

de la invención y el otro u otros agentes terapéuticos juntos en la misma composición farmacéutica, o el agente de la invención y el otro u otros agentes terapéuticos en forma separada, por ejemplo en forma de kit

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente de la invención y otro u otros agentes terapéuticos. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como se describió anteriormente.

Una persona experta apreciará que un agente de la invención puede administrarse a un sujeto, particularmente un sujeto humano, en el que el sujeto está siendo tratado con cirugía o radioterapia para una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante. Un compuesto de la invención también se puede administrar a un sujeto, particularmente un sujeto humano, en el que el sujeto ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de las 24 horas) con cirugía o radioterapia para una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante. Un sujeto, particularmente un sujeto humano, también puede tratarse con cirugía o radioterapia para una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante en la que un compuesto de la invención se ha administrado previamente (por ejemplo, dentro de las 24 horas) a un sujeto.

En una realización, la invención proporciona un kit que comprende dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene un agente de la invención. En una realización, el kit comprende medios para retener por separado dichas composiciones, tales como un recipiente, una botella dividida o un empaque de lámina dividida. Un ejemplo de tal kit es un empaque blíster, como típicamente se usa para el empaque de tabletas, cápsulas y similares.

El kit de la invención puede usarse para administrar diferentes formas de dosificación, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas a diferentes intervalos de dosificación, o para valorar las composiciones separadas entre sí. Para ayudar al cumplimiento, el kit de la invención típicamente comprende instrucciones para la administración.

En las terapias combinadas de la invención, el agente de la invención y el otro agente terapéutico pueden ser fabricados y/o formulados por los mismos o diferentes fabricantes. Además, el agente de la invención y el otro agente terapéutico pueden reunirse en una terapia combinada: (i) antes de la liberación del producto combinado a los médicos (por ejemplo, en el caso de un kit que comprende el agente de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por el propio médico (o bajo la dirección del médico) poco antes de la administración; (iii) en el propio paciente, por ejemplo durante la administración secuencial del agente de la invención y el otro agente terapéutico.

Por consiguiente, la invención proporciona el uso de un agente de la invención para tratar una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en la que el medicamento se prepara para la administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona el uso de otro agente terapéutico para tratar una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en la que el medicamento se administra con un agente de la invención.

La invención también proporciona un agente de la invención para usar en un método de tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en el que el agente de la invención se prepara para la administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona otro agente terapéutico para usar en un método de tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en el que el otro agente terapéutico se prepara para la administración con un agente de la invención. La invención también proporciona un agente de la invención para usar en un método de tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en el que el agente de la invención se administra con otro agente terapéutico. La invención también proporciona otro agente terapéutico para usar en un método de tratamiento de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en el que el otro agente terapéutico se administra con un agente de la invención.

La invención también proporciona el uso de un agente de la invención para tratar una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en la que el sujeto ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de las 24 horas) con otro agente terapéutico. La invención también proporciona el uso de otro agente terapéutico para tratar una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante, en la que el sujeto ha sido tratado previamente (por ejemplo, dentro de las 24 horas) con un agente de la invención.

Si es necesario, las composiciones también pueden contener fracciones de direccionamiento unidas al ingrediente activo, por ejemplo, un ligando que se une específica y selectivamente a un receptor endógeno para permitir el direccionamiento a un tipo o ubicación celular particular, tal como el direccionamiento a linfocitos, monocitos, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales, células sanguíneas, eritrocitos, plaquetas, eosinófilos, neutrófilos, células asesinas naturales, células dendríticas, células cerebrales, células cardíacas, células pulmonares, células de islotes, células renales, células cancerosas, células de glándulas hormonales, piel, hueso, articulaciones, médula ósea, mucosa gástrica, ganglios linfáticos, parches de Peyer, el epiplón y otros tejidos apropiados.

Los péptidos de la invención pueden usarse para ayudar o aumentar la acción de los agentes usados para tratamientos convencionales, por ejemplo, agentes citotóxicos, para reducir sus efectos secundarios, por ejemplo mediante protección de células madre durante el tratamiento.

En una realización, un péptido de la invención se administra junto con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos. Por ejemplo, un péptido de la invención puede usarse como un agente quimioterapéutico combinatorio. Los péptidos de la invención pueden inducir algunas células cancerosas, por ejemplo, células de AML, para ingresar al ciclo celular. Por lo tanto, las células que han sido estimuladas de esta manera pueden volverse más susceptibles a los fármacos anticancerígenos convencionales. Por lo tanto, los péptidos de la invención pueden usarse en combinación con otros agentes anticancerígenos, tales como fármacos citotóxicos, para atacar cánceres tales como leucemia, por ejemplo, AML.

Los péptidos de la invención también se pueden usar en combinación con otras terapias contra el cáncer para proteger la población de células madre endógenas. Los péptidos de la invención pueden mantener células madre/progenitoras normales en un estado de reposo G0/G1. Esta capacidad citoprotectora puede proteger a estas células madre de los efectos de cualquier tratamiento contra el cáncer. Esto puede ser de uso particular cuando los péptidos de la invención se usan en combinación con agentes citotóxicos que se dirigen a las células en división. Al mantener las células madre normales del paciente en un estado inactivo durante dicho tratamiento, se pueden minimizar los efectos secundarios del tratamiento contra el cáncer en la población de células madre endógenas.

Esta reducción en los posibles efectos secundarios también puede permitir que se use una dosis o nivel más alto del tratamiento convencional en el paciente de lo que de otro modo sería posible o seguro.

En una realización, el otro agente terapéutico es un agente antitumoral seleccionado del grupo que consiste en agentes antiproliferativos, inhibidores de quinasa, inhibidores de angiogénesis, inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores de cox-I, inhibidores de cox-II, inhibidores mitóticos, agentes de alquilación, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inhibidores del factor de crecimiento, radiación, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de la topoisomerasa, modificadores de la respuesta biológica, anticuerpos, citotóxicos, antihormonas, estatinas, antiandrógenos y agentes de fotoquimioterapia.

En consecuencia, la invención incluye como un aspecto adicional una combinación de un agente de la invención con un agente antitumoral seleccionado del grupo que consiste en agentes antiproliferativos, inhibidores de quinasa, inhibidores de angiogénesis, inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores de cox-I, inhibidores de cox-II, inhibidores mitóticos, agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inhibidores del factor de crecimiento, radiación, inhibidores del ciclo celular, enzimas, inhibidores de la topoisomerasa, modificadores de la respuesta biológica, anticuerpos, citotóxicos, antihormonas, estatinas, antiandrógenos y agentes de fotoquimioterapia

En una realización de la presente invención, el agente antitumoral usado junto con una composición de la presente invención es un agente antiangiogénesis, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de panquinasa o un inhibidor del factor de crecimiento.

Los inhibidores de panquinasa adecuados incluyen SU-11248 (malato de sutinib), descrito en la patente de los Estados Unidos Nº 6.573.293 (Pfizer Inc).

Los agentes antiangiogénesis incluyen, pero no se limitan a, los siguientes agentes, tales como inhibidores de EGF, inhibidores de EGFR, inhibidores de VEGF, inhibidores de VEGFR, inhibidores de TIE2, inhibidores de IGF1 R, inhibidores de COX-II (ciclooxigenasa II), inhibidores de MMP-2 (metaloproteinasa de matriz 2) e inhibidores de MMP-9 (metaloproteinasa de matriz 9). Los inhibidores adecuados de VEGF incluyen, por ejemplo, Avastina (bevacizumab), un anticuerpo monoclonal anti-VEGF de Genentech, Inc. de South San Francisco, California.

Los inhibidores adicionales de VEGF incluyen CP-547,632 (Pfizer Inc.), AG13736 (axitinib, Pfizer Inc.), ZD-6474 (AstraZeneca), AEE788 (Novartis), AZD-2171), VEGF Trap (Regeneron/Aventis), Vatalanib (también conocido como PTK-787, ZK-222584: Novartis & Schering AG), Macugen (pegaptanib octasódico, NX-1838, EYE-001, Pfizer Inc./Gilead/Eyetech), IM862 (Cytran Inc. de Kirkland, Washington, de EE. UU.); y Angiozima, una ribozima sintética de Ribozima (Boulder, Colorado) y Chiron (Emeryville, California) y sus combinaciones. Los inhibidores de VEGF útiles en la práctica de la presente invención se describen en las patentes de Estados Unidos Nos. 6.534.524 y 6.235.764. Los inhibidores de VEGF particularmente adecuados incluyen CP-547,632, axitinib, Vatalanib, Macugen y combinaciones de los mismos.

Otros agentes antiproliferativos que pueden usarse con las composiciones de la presente invención incluyen inhibidores de la proteína enzimática farnesil transferasa e inhibidores del receptor tirosina quinasa PDGFr. Los inhibidores de PDGFr incluyen, pero no se limitan a, los divulgados en la publicación de la solicitud internacional de patente No. WO01/40217, publicado el 7 de julio de 2001 y la publicación de solicitud internacional de patente No. WO2004/020431, publicado el 11 de marzo de 2004. Los inhibidores de PDGFr adecuados incluyen CP-673,451 y CP-868,596 de Pfizer y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los inhibidores de GARF adecuados incluyen AG-2037 de Pfizer (pelitrexol y sus sales farmacéuticamente aceptables). Los inhibidores de GARF útiles en la práctica de la presente invención se describen en la patente de Estados Unidos No. 5.608.082.

Los ejemplos de inhibidores de COX-II útiles que pueden usarse junto con los compuestos de la invención descritos en el presente documento incluyen CELEBREX (celecoxib), parecoxib, deracoxib, ABT-963, MK-663 (etoricoxib),

COX-189 (Lumiracoxib), BMS 347070, RS 57067, NS-398, Bextra (valdecoxib), paracoxib, Vioxx (rofecoxib), SD-8381, 4-metil-2- (3,4-dimetilfenil)-1-(4-sulfamoil-fenil)-1H-pirrol, 2-(4-etoxifenil)-4-metil-1-(4-sulfamoilfenil)-1H-pirrol, T-614, JTE-522, S-2474, SVT-2016, CT-3, SC-58125 y Arcoxia (etoricoxib). Además, los inhibidores de COX-II se describen en las solicitudes de patente de los Estados Unidos Nos. 10/801,446 y 10/801,429.

Otros inhibidores útiles como agentes antitumorales utilizados junto con las composiciones de la presente invención incluyen aspirina y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) que inhiben la enzima que produce prostaglandinas (ciclooxigenasa I y II), dando como resultado niveles más bajos de prostaglandinas incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: Salsalato (Amigesic), Diflunisal (Dolobid), Ibuprofeno (Motrin), Ketoprofeno (Orudis), Nabumetona (Relafen), Piroxicam (Feldene), Naproxeno (Aleve, Naprosyn), Diclofenaco (Voltarén), Indometacina (Indocin), Sulindac (Clinoril), Tolmetin (Tolectin), Etodolac (Lodine), Ketorolac (Toradol), Oxaprozin (Daypro) y sus combinaciones.

Los inhibidores de COX-I adecuados incluyen ibuprofeno (Motrin), nuprina, naproxeno (Aleve), indometacina (Indocin), nabumetona (Relafen) y combinaciones de los mismos.

Los agentes dirigidos utilizados junto con una composición de la presente invención incluyen inhibidores de EGFr tales como Iressa (gefitinib, AstraZeneca), Tarceva (erlotinib u OSI-774, OSI Pharmaceuticals Inc.), Erbitux (cetuximab, Imclone Pharmaceuticals, Inc.), EMD-7200 (Merck AG), ABX-EGF (Amgen Inc. y Abgenix Inc.), HR3 (Gobierno cubano), anticuerpos IgA (Universidad de Erlangen-Nuremberg), TP-38 (IVAX), proteína de fusión de EGFR, Vacuna de EGF, inmunoliposomas anti-EGFr (Hermes Biosciences Inc.) y combinaciones de los mismos. Los inhibidores de EGFr adecuados incluyen Iressa, Erbitux, Tarceva y combinaciones de los mismos. Otros agentes antitumorales incluyen los seleccionados entre los inhibidores del receptor pan erb o los inhibidores del receptor ErbB2, tales como CP-724,714 (Pfizer, Inc.), CM 033 (canertinib, Pfizer, Inc.), Herceptin (trastuzumab, Genentech Inc.), Omitarg (2C4, pertuzumab, Genentech Inc.), TAK-165 (Takeda), GW-572016 (lonafamib, GlaxoSmithKline), GW-282974 (GlaxoSmithKline), EKB-569 (Wyeth), PKM 66 (Novartis), dHER2 (vacuna de HER2, Corixa y GlaxoSmithKline), APC8024 (vacuna HER2, Dendreon), anticuerpo biespecífico anti-HER2/neu (Decof Cancer Center), B7.her2.IgG3 (Agensys), AS HER2 (Instituto de Investigación para Rad Biology & Medicine), anticuerpos biespecíficos trifuncionales (Universidad de Munich) y mAB AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc) y mAB 2B-1 (Chiron) y combinaciones de los mismos. Los agentes antitumorales selectivos particulares de erb incluyen Herceptina, TAK-165, CP-724,714, ABX-EGF, HER3 y combinaciones de los mismos. Los inhibidores del receptor pan erb adecuadamente incluyen GW572016, CM 033, EKB-569 y Omitarg y combinaciones de los mismos.

Además, se pueden seleccionar otros agentes antitumorales de los siguientes agentes, BAY-43-9006 (Onyx Pharmaceuticals Inc.), Genasense (augmerosen, Genta), Panitumumab (Abgenix/Amgen), Zevalin (Schering), Bexxar (Corixa/GlaxoSmithKline), Abarelix, Alimta, EPO 906 (Novartis), discodermolida (XAA-296), ABT-510 (Abbott), Neovastat (Aeterna), enzastaurina (Eli Lilly), Combrestatina A4P (Oxigene), ZD-6126 (AstraZeneca), flavopiridol (Aventis), CYC-202 (Cyclacel), AVE-8062 (Aventis), DMXAA (Roche/Antlsoma), Thymitaq (Eximias), Temodar (temozolomida, Schering Plough) y Revilimd (Celegene) y sus combinaciones.

Se pueden seleccionar otros agentes antitumorales de los siguientes agentes, CyPat (acetato de ciproterona), Histerelina (acetato de histrelina), Plenaixis (depósito de abarelix), Atrasentan (ABT-627), Satraplatino (JM-216), talomida (Talidomida), Terátopo, Temilifeno (DPPE) 1 ABI-007 (paclitaxel), Evista (raloxifeno), Atamestano (Biomed-777), Xyotax (poliglutamato de paclitaxel), Targetina (bexarotina) y combinaciones de los mismos.

Además, también se pueden seleccionar otros agentes antitumorales de los siguientes agentes, Trizaona (tirapazamina), Aposyn (exisulind), Nevastat (AE-941), Ceplene (diclorhidrato de histamina), Orathecin (rubitecano), Virulizin, Gastrimmune (G17DT), DX-8951f (mesilato de exatecano), Onconase (ranpimase), BEC2 (mitumoab), Xcytrin (motexafina gadolinio) y combinaciones de los mismos. Se pueden seleccionar agentes antitumorales adicionales entre los siguientes agentes, CeaVac (CEA), NeuTrexin (glucuronato de trimetrexato) y combinaciones de los mismos. Se pueden seleccionar agentes antitumorales adicionales entre los siguientes agentes, OvaRex (oregovomab), Osidem (IDM-1) y combinaciones de los mismos.

Se pueden seleccionar agentes antitumorales adicionales entre los siguientes agentes, Advexin (ING 201), Tirazone (tirapazamina) y combinaciones de los mismos. Se pueden seleccionar agentes antitumorales adicionales entre los siguientes agentes, RSR13 (efaproxiral), Cotara (1311 chTNT 1/b), NBI-3001 (IL-4) y combinaciones de los mismos. Se pueden seleccionar agentes antitumorales adicionales entre los siguientes agentes, Canvaxina, vacuna GMK, PEG Interón A, Taxoprexina (DHA/paclitaxel) y combinaciones de los mismos.

Otros agentes antitumorales incluyen el inhibidor MEK1/2 de Pfizer PD325901, el inhibidor de MEK Array Biopharm ARRY-142886, el inhibidor CDK2 de Bristol Myers BMS-387,032, el inhibidor de CDK de Pfizer PD0332991 y AXD-5438 de AstraZeneca y sus combinaciones.

Además, también se pueden utilizar inhibidores de mTOR tales como CCI-779 (Wyeth) y derivados de rapamicina RAD001 (Novartis) y AP-23573 (Ariad), inhibidores de HDAC SAHA (Merck Inc/Aton Pharmaceuticals) y combinaciones de los mismos. Los agentes antitumorales adicionales incluyen el inhibidor de aurora 2 VX-680 (Vertex), el inhibidor de Chk1/2 XL844 (Exilixis).

Los siguientes agentes citotóxicos, por ejemplo, uno o más seleccionados del grupo que consiste en epirrubicina (Ellence), docetaxel (Taxotere), paclitaxel, Zinecard (dexrazoxane), rituximab (Rituxan), mesilato de imatinib (Glivec) y combinaciones de los mismos, puede usarse junto con una composición de la presente invención como se describe en el presente documento.

La invención también contempla el uso de las composiciones de la presente invención junto con terapia hormonal, que incluye pero no se limita a, exemestano (Aromasin, Pfizer Inc.), leuprorelina (Lupron o Leuplin, TAP/Abbott/Takeda), anastrozol (Arimidex, AstraZeneca), goserelina (Zoladex, AstraZeneca), doxercalciferol, fadrozol, formestano, citrato de tamoxifeno (tamoxifeno, Nolvadex, AstraZeneca), Casodex (AstraZeneca), Abarelix (Praecis), Trelstar y combinaciones de los mismos.

La invención también se refiere a agentes de terapia hormonal tales como antiestrógenos que incluyen, pero no se limitan a fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, lasofoxifeno, letrozol (Femara, Novartis), antiandrógenos tales como bicalutamida, flutamida, mifepristone, nilutamida, Casodex (R)(4'-ciano-3-(4-fluorofenilsulfonil)-2-hidroxi-2-metil-3'-(trifluorometil)propionanilida, bicalutamida y combinaciones de los mismos.

Además, la invención proporciona una composición de la presente invención sola o en combinación con uno o más productos de cuidado de soporte, por ejemplo, un producto seleccionado del grupo que consiste en Filgrastim (Neupogen), ondansetrón (Zofran), Fragmin, Procrit, Aloxi, Emend, o combinaciones de los mismos.

Los agentes citotóxicos particularmente adecuados incluyen Camptosar, Erbitux, Iressa, Glivec, Taxotere y combinaciones de los mismos.

Los siguientes inhibidores de topoisomerasa I pueden utilizarse como agentes antitumorales: camptotecina; irinotecano HCl (Camptosar); edotecarina; Orathecin (SuperGen); exatecano (Daiichi); BN-80915 (Roche); y combinaciones de los mismos. Se prefieren particularmente los inhibidores de topoisomerasa II que incluyen epirrubicina (Ellence).

Los agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a, N-óxido de mostaza nitrogenada, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalan, busulfano, mitobronitol, carboquona, tiotepa, ranimustina, nimustina, temozolomida, AMD-473, altretamina, AP-5280, apaziquona , brostalicina, bendamustina, carmustina, estramustina, fotemustina, glufosfamida, ifosfamida, KW-2170, mafosfamida y mitolactol; los compuestos alquilantes coordinados con platino incluyen, pero no se limitan a, cisplatino, paraplatino (carboplatino), eptaplatino, lobaplatino, nedaplatino, eloxatina (oxaliplatino, Sanofi) o satraplatino y combinaciones de los mismos. Los agentes alquilantes particularmente preferidos incluyen Eloxatina (oxaliplatino).

Los antimetabolitos incluyen, pero no se limitan, metotrexato, 6-mercaptopurina ribósido, mercaptopurina, 5-fluorouracilo (5-FU) solo o en combinación con leucovorina, tegafur, LIFT, doxifluridina, carmofur, citarabina, citarabina ocfosfato, enocitabina S-1, Alimta (pemetrexed disódico, LY31514, MTA), Gemzar (gemcitabina, Eli Lilly), fludarabina, 5-azacitidina, capecitabina, cladribina, clofarabina, decitabina, eflornitina, etinilcitidina, arabinósido de citosina,

hidroxiurea, TS-1, melfalan, nelarabina, nolatrexed, ocfosfato, premetrexed disódico, pentostatina, pelitrexoi, raltitrexed, triapina, trimetrexato, vidarabina, vincristina, vinorelbina; o por ejemplo, uno de los anti-metabolitos preferidos descritos en la solicitud de patente europea No. 239362 tal como ácido N-(5-[N-(3,4-dihidro-2-metil-4-oxoquinazolin-6-ilmetil)-N- metilamino]-2-tenoil)-L-glutámico y combinaciones de los mismos.

Los antibióticos incluyen antibióticos intercalantes, pero no se limitan a: aclarrubicina, actinomicina D, amrubicina, anamicina, adriamicina, bleomicina, daunorrubicina, doxorrubicina, elsamitrucina, epirrubicina, galarrubicina, idarrubicina, mitomicina C, nemorrubicina, neocarzinostatina, peplomicina, pirarrubicina, rebecamicina, estimalamer, estreptozocina, valrubicina, zinostatina y combinaciones de los mismos.

Las sustancias antitumorales derivadas de plantas incluyen, por ejemplo, aquellas seleccionadas de inhibidores mitóticos, por ejemplo vinblastina, docetaxel (Taxotere), paclitaxel y combinaciones de los mismos.

Los agentes inhibidores de la topoisomerasa citotóxica incluyen uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en aclarrubicina, amonafida, belotecano, camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, 9-aminocamptotecina, diflomotecano, irinotecano HCl (Camptosar), edotecarina, epirrubicina (Eilence), etopósido), exatecano, gimatecano, lurtotecano, mitoxantrona, pirarrubicina, pixantrona, rubitecano, sobuzoxano, SN-38, taflupósido, topotecano y sus combinaciones. Los agentes inhibidores de topoisomerasa citotóxicos preferidos incluyen uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, 9-aminocamptotecina, irinotecano HCl (Camptosar), edotecarina, epirrubicina (Eilence), etopósido, SN-38, topotecano y combinaciones de los mismos.

Los inmunológicos incluyen interferones y numerosos otros agentes potenciadores del sistema inmunitario. Los interferones incluyen interferón alfa, interferón alfa-2a, interferón, alfa-2b, interferón beta, interferón gamma-1a, interferón gamma-1b (Actimmune) o interferón gamma-n1 y combinaciones de los mismos. Otros agentes incluyen filgrastim, ientinan, sizofilan, TheraCys, ubenimex, WF-10, aldesleucina, alemtuzumab, BAM-002, dacarbazina, daclizumab, denileucina, ozogamicina gemtuzumab, ibritumomab, imiquimod, lenograstim, lentinan, vacuna contra el melanoma (Corixa), molgramostim, OncoV AX-CL, sargramostim, tasonermin, tecleucina, timalasina, tositumomab,

Virulizin, 2-100, epratuzumab, mitumomab, oregovomab, pemtumomab (Y-muHMFGI), Provenge (Dendreon) y sus combinaciones.

Los modificadores de respuesta biológica son agentes que modifican los mecanismos de defensa de los organismos vivos o las respuestas biológicas, como la supervivencia, el crecimiento o la diferenciación de las células de los tejidos para dirigirlos para que tengan actividad antitumoral. Dichos agentes incluyen krestina, lentinan, sizofiran, picibanil, ubenimex y combinaciones de los mismos.

Otros agentes anticancerígenos incluyen alitretinoína, ampligen, atrasentan bexaroteno, bortezomib. Bosentan, calcitriol, exisulind, finasteride, fotemustina, ácido ibandrónico, miltefosina, mitoxantrona, 1-asparaginasa, procarbazina, dacarbazina, hidroxicarbamida, pegaspargasa, pentostatina, tazaroteno, Telcyta (TLK-286, Telik Inc.), Telik Inc., Millennium, Telik Inc., Millennium Inc., tretinoina y combinaciones de los mismos.

Otros compuestos antiangiogénicos incluyen acitretina, fenretinida, talidomida, ácido zoledrónico, angiostatina, aplidina, cilengitida, combretastatina A-4, endostatina, halofuginona, rebimastat, removab, Revlimid, escualamina, ukraina, vitaxina y combinaciones de los mismos. Los compuestos coordinados con platino incluyen, entre otros, cisplatino, carboplatino, nedaplatino, oxaliplatino y combinaciones de los mismos.

Los derivados de camptotecina incluyen, pero no se limitan a, camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, 9-aminocamptotecina, irinotecano, SN-38, edotecarina, topotecano y combinaciones de los mismos. Otros agentes antitumorales incluyen mitoxantrona, l-asparaginasa, procarbazina, dacarbazina, hidroxicarbamida, pentostatina, tretinoina y combinaciones de los mismos.

También se pueden utilizar agentes antitumorales capaces de mejorar las respuestas inmunitarias antitumorales, tales como los anticuerpos CTLA4 (antígeno 4 de linfocitos citotóxicos) y otros agentes capaces de bloquear CTLA4, tales como MDX-010 (Medarex) y compuestos CTLA4 descritos en la patente de los Estados Unidos Nº 6.682.736; y agentes antiproliferativos tales como otros inhibidores de farnesil proteína transferasa, por ejemplo los inhibidores de farnesil proteína transferasa. Además, los anticuerpos específicos contra CTLA4 que pueden usarse en la presente invención incluyen los descritos en la solicitud provisional de los Estados Unidos No. 60/113.647 (presentada el 23 de diciembre de 1998), patente de los Estados Unidos No. 6.682.736.

Los anticuerpos específicos de IGF1R que se pueden usar en la presente invención incluyen aquellos descritos en la solicitud internacional de patente No. WO 2002/053596. Los anticuerpos CD40 específicos que pueden usarse en la presente invención incluyen los descritos en la solicitud internacional de patente No. WO2003/040170.

Los agentes de terapia génica también pueden emplearse como agentes antitumorales tales como TNFerade (GeneVec), que expresan TNFalfa en respuesta a la radioterapia.

En una realización de la presente invención, las estatinas pueden usarse junto con una composición de la presente invención. Las estatinas (inhibidores de la HMG-CoA reductasa) pueden seleccionarse del grupo que consiste en Atorvastatina (Lipitor, Pfizer Inc.), Pravastatina (Pravachol, Bristol-Myers Squibb), Lovastatina (Mevacor, Merck Inc.), Simvastatina (Zocor, Merck Inc .), Fluvastatina (Lescol, Novartis), Cerivastatina (Baycol, Bayer), Rosuvastatina (Crestor, AstraZeneca), Lovostatina y Niacina (Advicor, Kos Pharmaceuticals), derivados y combinaciones de los mismos. En una realización preferida, las estatinas se selecciona del grupo que consiste en atovorstatina y lovastatina, derivados y combinaciones de los mismos. Otros agentes útiles como agentes antitumorales incluyen Caduet.

En una realización de la invención, las composiciones de la presente invención pueden usarse junto con agentes de fotoquimioterapia que se usan para generar localmente especies reactivas de oxígeno. Los ejemplos de agentes de fotoquimioterapia incluyen bacteriofeforbida de paladio (TOOKAD) usado en terapia fotodinámica; psoraleno, 8-metoxipsoraleno/metoxsaleno (Oxsoralen-Ultra®, 8-MOP®, Oxsoralen®, Uvadex®), 4,5,8-trimetilpsoraleno/trioxsaleno (Trisoralen®), utilizado en PUVA (Luz UV A de psoraleno); sistema de fotoforesis UVAR o UVAR® XTS^{MR} (Therakos, Inc., Exton, PA): Theraflex ECP® (Macopharma); CobeSpectra + sistema fotoinmune UVA PIT (Med Tech Solution); fotosensibilizadores tales como calcipotrieno, tazaroteno, crisarobina y su derivado sintético antralina/1,8-dihidroxi-9-antrona/ditranol (Drithocreme®); luciferasa de luciérnaga (*Photinus pyralis*) utilizada en (Destrucción Activada por bioluminiscencia (BLADe)), eritrosina B (EB); eritrosina sódica; m-tetra(hidroxifenil)cloro (m-THPC)/temoporfina (Foscan®, Biolitec AG); porfirinas tales como el ácido d-aminolevulínico (d-ALA) (Levulan Kerastick®; DUSA Pharmaceuticals, Inc.), 5-ALA metiléster (MLA/M-ALA) (Metvix®; PhotoCure ASA), 5-ALA benciléster (Benzvix®); 5-ALA hexiléster (Hexvix®), etiopurpurina de etil estaño (SnET2)/Sn etiopurpurina/rostaporfina (Photrex®, Purlytin®; Miravant MedicalTechnologies, protoporfirina boronada (BOPP®), 2-(1-hexiloxietil)-2-divinilpirofeofórbida-a (HPPH) (Photochlor®; Rosewell Park Cancer Institute), texafirinas que incluyen texafirina de europio (Eu-Tex), texafirina de disprosio (Dy-Tex), texafirina de manganeso (Mn-Tex), texafirina de lutecio/PCI-0123 (Lu-Tex®, Lutex®, Lutrin®), motexafina lutecio (MLu)/lutecio (III) texafirina (Lu-Tex) (Antrin®, Lutrin®, Optrin®; Pharmacyclics Inc.), motexafina gadolinio (MGd)/PCI-0120 (Xcytrin®; fuente: Pharmacyclics Inc.) ftalocianina-4 (PC4), taporfina sódica/NPe6/mono-L-aspartilclorina e6/taporfina sódica/LS11 (Talaporfin®; Light Science Corporation), anillo A del monoácido derivado de benzoporfirina (BPD)-MA)/verteporfina (Visudyne®, Novartis Pharmaceuticals), derivado de hematoporfirina (HpD) parcialmente purificado, porfímero sódico (Photofrin®; Axcan Pharma, Inc.), éteres de dihematoporfirina (DHE), fotosan-3 (PS-3), fotofrina-II, meso-tetrakis-fenilporfirina (TPP) y tetrafenilporfinasulfonato

(TPPS4)

Los siguientes ejemplos ilustran la invención:

Ejemplo 1: efecto de los péptidos sobre la viabilidad celular *in vitro*

En este ejemplo, los péptidos de la invención se usaron en ensayos *in vitro* para determinar sus efectos sobre la muerte celular y la proliferación celular en una variedad de líneas celulares.

Métodos

1. Diseño de péptidos

Se construyeron los siguientes péptidos:

Se sabe que HXR9 (SEQ ID NO. 86) previene la interacción entre las proteínas PBX y HOX para inhibir el crecimiento de varios cánceres diferentes tanto *in vitro* como en modelos de ratón (Morgan, R., Pirard, PM, Shears, L. , Sohal, J., Pettengell, R. y Pandha, HS (2007) Antagonism of HOX/PBX dimer formation blocks the in vivo proliferation of melanoma. Cancer Res, 67, 5806-5813; Shears, L., Plowright, L., Harrington, K., Pandha, H. S. & Morgan, R. (2008) Disrupting the interaction between HOX and PBX causes necrotic and apoptotic cell death in the renal cancer lines CaKi-2 and 769-P. J Urol, 180, 2196-2201; Plowright, L., Harrington, K. J., Pandha, H. S. & Morgan, R. (2009) HOX transcription factors are potential therapeutic targets in non-small-cell lung cancer (targeting HOX genes in lung cancer). Br J Cancer, 100, 470-475; Daniels, T. R., Neacato, II, Rodriguez, J. A., Pandha, H. S., Morgan, R. & Penichet, M. L. (2010) Disruption of HOX activity leads to cell death that can be enhanced by the interference of iron uptake in malignant B cells. Leukemia, 24, 1555-1565; Morgan, R., Plowright, L., Harrington, K. J., Michael, A. & Pandha, H. S. (2010) Targeting HOX and PBX transcription factors in ovarian cancer. BMC Cancer, 10, 89; Morgan, R., Boxall, A., Harrington, K. J., Simpson, G. R., Gillett, C., Michael, A. & Pandha, H. S. (2012) Targeting the HOX/PBX dimer in breast cancer. Breast Cancer Res Treat, 136, 389-398; Errico, M. C., Felicetti, F., Bottero, L., Mattia, G., Boe, A., Felli, N., Petrini, M., Bellenghi, M., Pandha, H. S., Calvaruso, M., Tripodo, C., Colombo, M. P., Morgan, R. & Care, A. (2013) The abrogation of the HOXB7/PBX2 complex induces apoptosis in melanoma through the miR-221&222-c-FOS pathway. Int J Cancer, 133, 879-892; Morgan, R., Boxall, A., Harrington, K. J., Simpson, G. R., Michael, A. & Pandha, H. S. (2014) Targeting HOX transcription factors in prostate cancer. BMC Urol, 14, 17).

HXR9 (SEQ ID NO: 86) contiene la secuencia del hexapéptido HOX altamente conservada WYPWMKK (SEQ ID NO: 85), que se sabe que media este proceso, vinculado a un péptido de poliarginina que se demostró previamente que media el movimiento eficiente de proteínas a través de las membranas celulares.

CXR9 (SEQ ID NO: 87) se generó como un péptido de control, basado en la secuencia de HXArg9 pero con una sustitución de aminoácidos en la secuencia del péptido interferente HOX/PBX y está inactivo en los modelos de cáncer descritos anteriormente.

HXR9AS7 (SEQ ID NO: 88) se basa en la secuencia de HXArg9 en la que se conserva la secuencia del hexapéptido HOX WYPWMKK (SEQ ID NO: 50).

HXR9noH (SEQ ID NO: 89) se basa en la secuencia de HXArg9 en la que se conserva la secuencia del hexapéptido HOX WYPWMKK (SEQ ID NO: 50).

HXR9KS3 (SEQ ID NO: 6) basado en la secuencia de HXArg9 pero con una sustitución de aminoácidos en la secuencia del péptido interferente HOX/PBX.

HXR9KS3/7 (SEQ ID NO: 7) basado en la secuencia de HXArg9AS7 pero con una sustitución de aminoácidos en la secuencia del péptido interferente HOX/PBX.

HXR9KS3noH (SEQ ID NO: 8) basado en la secuencia de HXArg9noH pero con una sustitución de aminoácidos en la secuencia del péptido interferente HOX/PBX.

Las secuencias de estos péptidos son las siguientes. Todos los péptidos se prepararon mediante síntesis química de rutina. Estos péptidos fueron sintetizados por Sigma-Aldrich con una pureza del 90% y se proporcionaron como un polvo liofilizado. Esto se disolvió en agua para proporcionar una concentración patrón de 100 mM de cada péptido.

HXR9 (SEQ ID NO: 86): WYPWMKKHHRRRRRRRRR

CXR9 (SEQ ID NO: 87): WYPAMKKHHRRRRRRRRR

HXR9AS7 (SEQ ID NO: 88): WYPWMKKAARRRRRRRRR

HXR9noH (SEQ ID NO: 89): WYPWMKKRRRRRRRRR

HXR9KS3 (SEQ ID NO: 6): WYKWMKKHHRRRRRRRRR

HXR9KS3/7 (SEQ ID NO: 7): WYKWMKKAARRRRRRRRR (en adelante, 'HTL001')

HXR9KS3noH (SEQ ID NO: 8): WYKWMKKRRRRRRRRR

2. Ensayo

La citotoxicidad de los péptidos en las líneas celulares derivadas de cáncer de próstata DU145 y PC3 se probó como se describió previamente (Morgan et al. 2014, ibídem), usando el ensayo MTT para la actividad metabólica. El fármaco citotóxico Docetaxel (un fármaco quimioterapéutico estándar) se incluyó como control positivo. El ensayo se repitió 3 veces y los resultados se presenta como la media de la IC_{50} para la muerte celular ± desviación estándar.

Resultados

La dosis requerida para matar el 50% de las células (la IC_{50}) después de 2 y 96 horas se muestra en la Tabla 1 a continuación. Las dosis están en μM (micromoles), y el valor medio de 3 experimentos se presenta junto con la desviación estándar. La diferencia de veces en IC_{50} con respecto a HXR9 también se muestra en cursiva.

Tabla 1: Efecto de los péptidos sobre la viabilidad de las células PC3 *in vitro*

Péptido	PC3 2 h IC50 (± SD) (*cambio con respecto a HXR9*)	PC3 96 h IC50 (±SD) (*cambio con respecto a HXR9*)
CXR9	>80	>80
HXR9KS3/7 (HTL001)	13 (65) *(2.23)*	11 (64) *(3.91)*
HXR9AS7	45 (619) *(0.64)*	40 (630) *(1.08)*
HXR9KS3	19 (610) *(1.53)*	17 (61) (2.53)
HXR9	29 (620) (1)	43 (622) (1)
HXR9KS3noH	22 (66) *(1.32)*	21 (611) (2.05)
HXR9noH	60 (613) (0.48)	54 (618) (0.80)
Docetaxel	4 (66)	0 (60)

Ejemplo 2: efecto de los péptidos sobre la viabilidad celular in vitro

Métodos

Péptidos

HXR9 (SEQ ID NO: 86): WYPWMKKHHRRRRRRRRR

CXR9 (SEQ ID NO: 87): WYPAMKKHHRRRRRRRRR

HXR9KS3/7 (SEQ ID NO: 7): WYKWMKKAARRRRRRRRR (en adelante, 'HTL001')

Estos péptidos fueron sintetizados por Sigma-Aldrich con una pureza del 90% y se proporcionaron como un polvo liofilizado. Esto se disolvió en agua para producir una concentración patrón de 100 mM de cada péptido.

Ensayo

Ensayos *in vitro* para muerte celular

La citotoxicidad de los péptidos en las líneas celulares derivadas de cáncer de próstata DU145, LnCaP y PC3, y la línea celular derivada de cáncer de mama MDA-MB-231 se probó como se describió previamente (Morgan et al. 2014), usando el ensayo MTT de actividad metabólica. Se sembraron 7000-16000 células, dependiendo de la línea celular, en una placa para células de 96 pozos y se trataron con 5, 10, 20, 40 y 80 μM de CXR9, HXR9 y HTL001 durante 2 h. Después del tratamiento, se añadió MTT a una concentración final de 0,5 mg/mL. Tras 4 h de incubación, los cristales de formazán formados se disolvieron en DMSO y la densidad óptica (OD) se midió a 540 nm con un espectrofluorímetro. El porcentaje de supervivencia celular se calculó como una relación del valor medio de OD de las células tratadas frente a las no tratadas. Los experimentos se repitieron 3 veces y el análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student. Todas las líneas celulares se cultivaron en medio RPMI con adición de FBS al 10%, piruvato de sodio al 1% y L-Glutamina al 1%. Todos fueron cultivados en una incubadora a 37 °C, 5% de CO_2. El

ensayo se repitió 3 veces y los resultados se presentan como la IC50 media para la muerte celular ± la desviación estándar.

Resultados

Como se muestra en la Figura 1, HTL001 (HXR9KS3/7) es significativamente más efectivo que HXR9 para matar cada uno de los tipos de células analizados:

Ejemplo 3: localización de HTL001 en células PC3

Método

Para evaluar qué tan bien HTL001 se había unido a las proteínas PBX en toda la célula, las células PC3 se trataron con péptido etiquetado con FAM5 (HTL001/7FAM5), se fijaron y se montaron con medio de montaje Vectashield HardSet antifade con Dapi (Vector Laboratories). Luego se observaron bajo el microscopio de fluorescencia Leica.

Se sembraron $1.5x10^5$ células PC3 en cubreobjetos de 22 x 22 mm dentro de una placa de 6 pozos. Después de 24-48 h, de incubación las células se trataron con HTL001/7FAM5 durante 2 horas. Después del período de incubación, se eliminó el medio y se lavó 3 veces con PBS. Se añadió metanol frio y los cubreobjetos se incubaron durante 10 minutos. Luego se eliminó el metanol y se dejó secar al aire en la oscuridad durante 20 minutos. Los cubreobjetos se lavaron dos veces con PBS y se montaron en portaobjetos con medio de montaje e Vectashield HardSet antifade con DAPI.

Resultados

HTL001 fue absorbido por las células PC3 y se encontró que estaba presente tanto en el citoplasma como en el núcleo, como se muestra en la Figura 2.

Ejemplo 4: expresión de cFOS en células PC3 después del tratamiento con HTL001

Método

Se sembraron células PC3 en placas de 25 cm^2 y se trataron durante 2 horas con CXR9, HXR9 y HTL001 33 µM a una confluencia del 80%. El ARN se aisló usando el Mini Kit RNeasy-QIAGEN de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se cuantificó con NanoDrop ND-1000. Se generó ADNc a partir de 1 µg de ARN total usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad en un volumen de reacción final de 25 µL de acuerdo con el protocolo del fabricante. La expresión de cFOS se cuantificó por qRT-PCR. Las reacciones de PCR en tiempo real se realizaron usando una dilución 1:10 (5 µL/pozo) de cada ADNc agregado a la mezcla maestra universal de PCR TaqMan y el ensayo de expresión génica Hs00170630_m1 FOS. La amplificación de la sonda de gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (*GAPDH*) se realizó como control endógeno. Se usó el método Ct comparativo (algoritmo ΔΔCt) para el análisis. Se realizaron experimentos independientes por triplicado y se repitieron tres veces. El análisis estadístico se realizó con la prueba t de Student.

Resultados

El tratamiento con HXR9 y HTL001 causó un aumento significativo en la expresión de cFos en comparación con las células PC3 no tratadas, como se muestra en la Figura 3. La expresión de cFos también fue significativamente mayor en las células tratadas con HTL001 en comparación con las tratadas con HXR9.

Estos resultados indican que cFos puede actuar como un biomarcador de la respuesta tumoral a un péptido de la invención, y como tal, su expresión elevada es un punto final potencial de ensayo clínico sustituto.

Ejemplo 5: ensayo de anexina V-FITC

El efecto de HTL001 sobre la apoptosis se evaluó usando un ensayo de anexina V. La anexina V se une a la fosfatidilserina que se transloca desde la membrana plasmática interna a la superficie celular poco después de iniciar la apoptosis. La diferenciación entre apoptosis y necrosis se realiza mediante la adición de yoduro de propidio (PI).

Método

Se sembraron células PC3 en placas de 25 cm^2 y a una confluencia del 80% tratadas con CXR9, HXR9 y HTL001 33 µM durante 2 h. Al final de la exposición, se recogieron células flotantes y adherentes mediante tripsinización, se lavaron en PBS y se volvieron a suspender 4-5 x 10^5 células en 100 µL de tampón de unión. Se añadieron 5 µL de anexina V-FITC y 0.5 µL de PI, se mezclaron y se incubaron durante 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Después de la incubación, se añadieron 400 µL de tampón de unión y las muestras se analizaron por citometría de flujo. El control positivo tratado con STS 2 µM durante 8 h se tiñó por separado solo con anexina V (canal FL-1), solo PI (canal FL-2) y ambos, para los ajustes de compensación de las dos señales. Se evaluaron 10^4 células en cada muestra y el análisis se realizó en el software CellQuest Pro. Se generaron gráficos de puntos (FL-1 H/FL-2H) y las células se dividieron en vivas, apoptóticas tempranas, apoptóticas tardías y necróticas. Los experimentos se

repitieron 3 veces y el análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student.

Resultados

El tratamiento con HXR9 y HTL001 provocó un aumento significativo en la tinción de anexina en comparación con las células PC3 no tratadas, como se muestra en la Figura 4. La tinción de anexina fue significativamente mayor en las células tratadas con HTL001 en comparación con las tratadas con HXR9.

Ejemplo 6: Efecto de HTL001 en xenoinjertos de tumor de células PC3

Método

Se inyectaron células PC3 por vía subcutánea en ratones desnudos Balb-c hembra o macho de 6 a 12 semanas (Harlan, Reino Unido). Cuando el tamaño del tumor alcanzó 100 mm^3, los ratones fueron inyectados intratumoralmente con PBS, HXR9 o HTL001 en los intervalos que se muestran en la Figura 3. Los ratones se sacrificaron cuando el tamaño del tumor alcanzó 1000 mm^3 o al final del experimento (36 días). Luego se extirparon los tumores y se sumergieron en formalina al 10% durante 24 horas y se procesaron para inclusión en parafina. Se prepararon cortes de xenoinjertos de 5 µm en bloques de parafina usando micrótomo y diferentes proteínas detectadas por inmunohistoquímica.

Las secciones de parafina de los xenoinjertos de la línea celular PC3 se desparafinaron y rehidrataron, los antígenos se recuperaron usando tampón de citrato y se inactivaron las peroxidasas endógenas usando H_2O_2. Los portaobjetos se bloquearon con suero de bloqueo apropiado y se incubaron con anticuerpo primario en suero de bloqueo durante 1 hora a temperatura ambiente. Los anticuerpos primarios contra DUSP1 se lavaron con PBS y los portaobjetos se incubaron en anticuerpo secundario durante 30 minutos. El kit ABC se utilizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante para unir la peroxidasa H al anticuerpo secundario. El sustrato de peroxidasa DAB se usó para la visualización y los núcleos teñidos con hematoxilina. Las secciones se contratiñeron en alcohol ácido, se empañaron en agua corriente de Scott, se deshidrataron, se limpiaron y se montaron con DPX.

Resultados

HTL001 provoca un retraso significativo del crecimiento de los tumores PC3 en ratones, como se muestra en la Tabla 2 y las Figuras 5, 6 y 7.

Tabla 2: Efecto de HTL001 en xenoinjertos de tumor de células PC3

Grupo	Tiempo medio para RTV2 (días)	Tiempo medio para RTV2 (días)	Retraso del crecimiento (días)	Significancia	% máximo de perdida de peso
Controles de PBS	9.2	10.5	-	-	0
HXR9	17.8	18.4	7.9	p>0.05 ns	0
HTL001	21.0	17.2	6.7	p<0.05	0
Grupo	Tiempo medio para RTV3 (días)	Tiempo medio para RTV3 (días)	Retraso del crecimiento (días)	Significancia	% máximo de perdida de peso
Controles de PBS	12.1	13.6	-	-	0
HXR9	20.8	20.8	7.2	p>0.05 ns	0
HTL001	26.5	25.1	11.5	p<0.01	0

La Figura 5 muestra el volumen tumoral relativo medio tratado con HTL001 en relación con ratones inyectados con PBS en función del tiempo.

La Figura 6 muestra el % relativo medio de peso corporal de ratones portadores de tumor, tratados con HTL001 en relación con ratones inyectados con PBS en función del tiempo.

La Figura 7 muestra el tiempo hasta la duplicación y triplicación del tumor, en relación con los ratones inyectados con PBS.

Ejemplo 7: Ensayo con base en células para la unión de HOX/PBX

A continuación se describe un ensayo adecuado para determinar la actividad antagonista de un péptido de la invención en relación con la interacción entre HOX y PBX.

Método

Para evaluar directamente la capacidad de cada péptido para interrumpir la unión de HOX/PBX, se desarrolló un sistema de ensayo con base en células que podría permitir la formación de dímeros de HOX/PBX/ADN. Las células MDA-MB-231 cultivadas se trataron con 10 µM de cada péptido durante 4 horas y luego se usaron para generar un lisado celular usando un método de preparación estándar como se describe a continuación. Los dímeros HOXB4/PBX2 se midieron luego utilizando un sistema basado en ELISA como se detalla en la tabla a continuación. Los valores de este ensayo se expresan como % de inhibición de la formación del dímero en comparación con un control negativo (DMSO).

Preparación del lisado:

1. Recoja aproximadamente 5.0 x 10^7 células por centrifugación a baja velocidad a temperatura ambiente durante 5 minutos. Retire cuidadosamente el medio de cultivo.

2. Lave las restos celulares (sedimento) con PBS a temperatura ambiente y recójalos por centrifugación a baja velocidad. Retire con cuidado el sobrenadante (proteína total).

3. Agregue 1.0 mL de tampón RIPA previamente enfriado (u otro tampón apropiado) con (inhibidores de proteasa) recientemente añadidos y/o (inhibidores de fosfatasa). Resuspenda suavemente las células en tampón RIPA con una pipeta e incube en hielo durante 30 minutos.

4. Agite y homogenice más las células al pasar a través de una aguja de calibre 21, homogenice con un homogeneizador Dounce, o someta a sonicación teniendo cuidado de no elevar la temperatura del lisado. (Opcional: agregue 10 µL de 10 mg/mL de patrón de PMSF). Incube 30 min en hielo.

5. Transfiera a un tubo o tubos de microcentrífuga y centrifugue a 10000 x g durante 10 minutos a 4 °C. El líquido sobrenadante es el lisado celular total. Transfiera el sobrenadante a un nuevo tubo de microcentrífuga y deseche el sedimento.

Método de ensayo

Todos los volúmenes son de 0.1 mL a menos que se especifique lo contrario; Temperatura ambiente. Placas lavadas por inmersión.

Etapa	Proceso	Tiempo (min)	Fuente
1	Placas recubiertas	60	0.2 mg/mL de estreptavidina (Sigma 85878 1 mg, disolver en 5 mL de PBST)
2	Lavado	x 4	PBST
3	Ab anti-ratón biotina	30	anti-ratón-biotina de burro, ab7060, usar a razón de 1:1000
4	Lavado	x 4	PBST
5	Anti-PBX2	30	mAb para PBX2, ab55498, usar a razón de 1:500
6	Lavado	x 4	PBST
7	Bloqueo	60	T20
8	Lavado	x 4	PBST
7	Lisado celular	30	Diluido a 100mg/mL en PBST
8	Lavado	x 4	PBST
9	Anti-HOXB4	30	Anti-HOXB4 de conejo, ab56049, usar a razón de 1:10,000
10	Lavado	x 4	PBST

11	AP anti-conejo	30	AP anti-conejo de cabra, ab6722, usar a razón de 1:3000
12	Lavado	x 4	PBST
13	Lavado	x 1	TBS
14	Desarrollo de color	30	Solución pNpp

En la Figura 8 se muestra un diagrama esquemático para el ensayo del dímero HOXB4/PBX2.

Resultados

HTL001 mostró 28.2 (SEM 4,4) % de inhibición de la formación del dímero HOXB4/PBX2.

Ejemplo 8: Expresión de la proteína DUSP1 en xenoinjertos de tumor de la línea celular PC3 tratada con HTL001 (HXR9KS3/7)

La expresión de la proteína DUSP1, previamente identificada como un objetivo de HXR9 (Morgan et al. 2007, ibídem), se examinó en tumores PC3 extraídos de ratones después del tratamiento intratumoral con PBS únicamente, HXR9 o HTL001. Como se muestra en la Figura 9, la expresión de DUSP1 (tinción marrón) aumenta considerablemente después del tratamiento con HTL001.

Estos resultados indican que la proteína DUSP1 puede actuar como un biomarcador de la respuesta tumoral a un péptido de la invención, y como tal, su expresión elevada es un posible punto final sustituto del ensayo clínico.

Listado de secuencias

<110> HOX THERAPEUTICS LIMITED

<120> Péptidos

<130> P215.001GB

<160> 95

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético de Fórmula (I). La secuencia se une a Y^1 en el terminal N y a Y^2 en el terminal C. Y^1 y Y^2 están ausentes o un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos, siempre que esté presente al menos uno de Y^1 y Y^2.

<220>

<221> > VARIANTE

<222> (1) .. (3)

<223> X1 en la Fórmula (I). Cualquier Xaa puede estar presente o ausente: indica un rango de 0 a 3 aminoácidos. Si está presente, X^1 se selecciona de W, T, PE, KQI, W, PQT, H y RI.

<220>

<221> > VARIANTE

<222> (4) .. (4)

<223> X2 en la Fórmula (I). Xaa es un aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína

<220>

<221> VARIANTE

<222> (7) .. (7)

<223> X3 en la Fórmula (I). Xaa es un aminoácido hidrófobo

<220>

<221> VARIANTE

<222> (8) .. (8)

<223> X4 en la Fórmula (I). Xaa es un aminoácido con una cadena lateral cargada.

<220>

<221> VARIANTE

<222> (9) .. (9)

<223> X5 en la Fórmula (I). Xaa es un aminoácido con una cadena lateral básica.

<220>

<221> VARIANTE

<222> (10) .. (10)

<223> X6 en la Fórmula (I). Xaa es un aminoácido o está ausente.

<220>

<221> VARIANTE

<222> (11) .. (11)

<223> X7 en la Fórmula (I). Xaa es un aminoácido o está ausente. Si está presente, unido a Y^2 (si está presente), ya sea directamente o mediante uno o más aminoácidos. (Y^2 es un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos).

<400> 1

```
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1               5                   10
```

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético de Fórmula (II). La secuencia esta unida a Y3 en el terminal N y a Y4 en el terminal C. Y3 y Y4 están cada uno ausente o son un péptido que comprende una fracción de penetración celular siempre que al menos este presente uno de Y^3 y Y^4.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)..(11)

<223> Al menos los aminoácidos del terminal N y el terminal C del péptido sintético de Fórmula (II), que es la SEQ ID NO: 2 con al menos uno de Y3 y Y4 presente, están en la conformación D.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)..(3)

<223> X1 en la Fórmula (II). Cualquier Xaa puede estar presente o ausente: indica un intervalo de 0 a 3 aminoácidos. Si está presente, X1 se selecciona de W, T, PE, KQI, W, PQT, H y RI.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (4)..(4)

<223> X^2 en la Formula (II). Xaa es un aminoácido con una cadena lateral aromática o cisteína

<220>
<221> VARIANTE

<222> (7)..(7)

<223> X3 en la Fórmula (II). Xaa es un aminoácido hidrófobo

<220>
<221> VARIANTE

<222> (8)..(8)

<223> X4 en la Fórmula (II). Xaa es an aminoácido con una cadena lateral cargada.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (9)..(9)

<223> X5 en la Fórmula (II). Xaa es an aminoácido con una cadena lateral básica.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (10)..(10)

<223> X6 en la Fórmula (II). Xaa es un aminoácido o está ausente.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (11)..(11)

<223> X7 en la Fórmula (II). Xaa es un aminoácido o está ausente. Si está presente, unido a Y4 (si está presente), ya sea directamente o mediante uno o más aminoácidos. (Y4 es un péptido que comprende una fracción de penetración celular).

<4002

```
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1               5                   10
```

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de Fórmula (I). La secuencia está unida a Y1 en el terminal N y a Y2 en el terminal C. Y1 e Y2 están ausentes o un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos, siempre que esté presente al menos uno de Y1 e Y2.

<400> 3

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His
1 5

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de Fórmula (I). La secuencia está unida a Y1 en el terminal N y a Y2 en el terminal C. Y1 y Y2 están ausentes o un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos, siempre que esté presente al menos uno de Y1 y Y2.

<400> 4

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala
1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de Fórmula (I). La secuencia está unida a Y1 en el terminal N y a Y2 en el terminal C. Y1 y Y2 están ausentes o un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos, siempre que esté presente al menos uno de Y1 y Y2.

<400>5

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys
1 5

<210> 6

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400>6

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 7

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 7

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 8

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 9

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 10

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His
1 5

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 11

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His Arg
1 5 10

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 12

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala
1 5

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 13

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala Arg
1 5 10

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido Sintético

<400> 14

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys
1 5

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 15

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Arg
1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de Fórmula (II). La secuencia está unida a Y3 en el terminal N y a Y4 en el terminal C. Y3 y Y4 están ausentes o un péptido que comprende una fracción de penetración celular, siempre que esté presente al menos uno de Y3 y Y4.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)..(9)

<223> Al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C del péptido sintético de Fórmula (II), es decir, SEQ ID NO: 16 con al menos uno de Y3 y Y4 presente, están en la conformación D.

<400> 16

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His
1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de Fórmula (II). La secuencia está unida a Y3 en el terminal N y a Y4 en el terminal C. Y3 y Y4 están ausentes o un péptido que comprende una fracción de penetración celular, siempre que esté presente al menos uno de Y3 y Y4.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)..(9)

<223> Al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C del péptido sintético de Fórmula (II), es decir SEQ ID NO: 17 con al menos uno de Y3 y Y4 presente, están en la conformación D.

<400> 17

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala
1 5

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de Fórmula (II). La secuencia está unida a Y3 en el terminal N y a Y4 en el terminal C. Y3 y

Y4 están ausentes o un péptido que comprende una fracción de penetración celular, siempre que esté presente al menos uno de Y3 y Y4.

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)..(7)

<223> Al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C del péptido sintético de Fórmula (II), es decir, la SEQ ID NO: 18 con al menos uno de Y3 y Y4 presente, están en la conformación D.

<400> 18

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys
1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 19

Trp Cys Lys Trp Leu Asp Arg His Gly
1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 20

Trp Tyr Lys Trp Val Lys Lys His His
1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 21

Trp Tyr Lys Trp Ile Lys Lys His His
1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 22

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Lys His His
1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 23

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Arg His His
1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 24

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg His His
1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 25

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Thr His
1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 26

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His Thr
1 5

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 27

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Thr Thr
1 5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 28

Trp Cys Lys Trp Met Lys Lys His His
1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 29

Trp Cys Lys Trp Met Arg Lys His His
1 5

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>
<221> VARIANTE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede estar presente o ausente. Si está presente, Xaa es Arg o Gln

<220>
<221> VARIANTE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa es Ile o Leu

<220>
<221> VARIANTE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa es Lys o Arg

<220>
<221> VARIANTE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa es Ile o Leu

<220>
<221> VARIANTE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa es Lys o Arg

<220>
<221> VARIANTE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa es Lys o Arg

<220>
<221> VARIANTE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa es Lys o Arg

<220>
<221> VARIANTE

<222> (15)..(16)

<223> Xaa es Lys o Arg

<400> 30

```
Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Trp Phe Gln Asn Xaa Xaa Met Xaa Trp Xaa Xaa
1               5                   10                  15
```

<210> 31

<211> 25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 31

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe
1 5 10 15

Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
20 25

<210> 32

<211> 25

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 32

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe
1 5 10 15

Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
20 25

<210> 33

<211> 23

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 33

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn
1 5 10 15

Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
20

<210> 34

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 34

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His His Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe
1 5 10 15

Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys
20

<210> 35

<211> 24

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 35

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe
1 5 10 15

Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys
20

<210> 36

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 36

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn
1 5 10 15

Arg Arg Met Lys Trp Lys
20

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 37

Trp Cys Lys Trp Met Lys Arg His His
1 5

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 38

Trp Cys Lys Trp Met Arg Arg His His
1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400v 39

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Arg Thr His
1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 40

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Lys Thr His
1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 41

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg Thr His
1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 42

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Lys His Thr
1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 43

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Arg His Thr
1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 44

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg His Thr
1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 45

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg Thr Thr
1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 46

Trp Tyr Lys Trp Leu Arg Lys His His
1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 47

Trp Tyr Lys Trp Leu Lys Arg His His
1 5

<210> 48

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 48

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys His
1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 49

Trp Cys Lys Trp Leu Asp Arg Ala Gly
1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 50

Trp Tyr Lys Trp Val Lys Lys Ala Ala
1 5

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 51

Trp Tyr Lys Trp Ile Lys Lys Ala Ala
1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 52

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Lys Ala Ala
1 5

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 53

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Arg Ala Ala
1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 54

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg Ala Ala
1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 55

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Thr Ala
1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 56

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala Thr
1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 57

Trp Cys Lys Trp Met Lys Lys Ala Ala
1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 58

Trp Cys Lys Trp Met Arg Lys Ala Ala
1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 59

Trp Cys Lys Trp Met Lys Arg Ala Ala
1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 60

Trp Cys Lys Trp Met Arg Arg Ala Ala
1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 61

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Arg Thr Ala
1 5

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 62

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Lys Thr Ala
1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 63

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg Thr Ala
1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 64

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Lys Ala Thr
1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 65

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Arg Ala Thr
1 5

<210> 66

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 66

Trp Tyr Lys Trp Met Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 67

Trp Tyr Lys Trp Leu Arg Lys Ala Ala
1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 68

Trp Tyr Lys Trp Leu Lys Arg Ala Ala
1 5

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 69

Trp Tyr Lys Trp Met Lys Lys Ala
1 5

<210> 70

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 70

Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 71

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 71

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 72

Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Lys Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 73

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 73

Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Lys Lys Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 74

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 74

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Lys Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 75

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 75

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Arg Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 76

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 76

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Arg Lys
1 5 10 15

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 77

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Arg
1 5 10 15

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 78

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Arg Arg
1 5 10 15

<210> 79

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 79

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 80

Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Arg Lys
1 5 10 15

<210> 81

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 81

Gln Ile Arg Ile Trp Phe Gln Asn Lys Arg Met Lys Trp Arg Lys
1 5 10 15

<210> 82

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 82

Gln Ile Lys Leu Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 83

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 83

Gln Leu Lys Leu Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 84

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 84

Gln Leu Arg Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético (secuencia del hexapéptido HOX)

<400> 85

Trp Tyr Pro Trp Met Lys Lys
1 5

<210> 86

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Control del péptido sintético HXR9

<400> 86

Trp Tyr Pro Trp Met Lys Lys His His Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 87

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de control CXR9

<400> 87

Trp Tyr Pro Ala Met Lys Lys His His Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 88

<211> 18

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de control HXR9AS7

<400> 88

```
Trp Tyr Pro Trp Met Lys Lys Ala Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1               5                   10                  15

Arg Arg
```

<210> 89

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético de control HXR9noH

<400> 89

```
Trp Tyr Pro Trp Met Lys Lys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1               5                   10                  15
```

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 90

```
Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1               5
```

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 91

```
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1               5
```

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 92

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5

<210> 93

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 93

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 94

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 94

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 95

<211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 95

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula (I):

$$Y^1X^1X^2KWX^3XX^5X^6X^7Y^2 \quad (I)$$

en la que

la secuencia X^1 a X^7 se selecciona de WYKWMKKHH, WYKWMKKAA y WYKWMKK; y

Y^1 e Y^2 están ausentes o son un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos, con la condición de que esté presente al menos uno de Y^1 y Y^2.

2. Un péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Y^1 y/o Y^2 es una fracción de penetración celular.

3. Un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que Y^1 y/o Y^2 es un homopolímero de aminoácidos básicos, opcionalmente en el que los aminoácidos básicos de Y^1 y/o Y^2 se seleccionan de arginina, lisina e histidina, opcionalmente en el que Y^1 y/o Y^2 es un péptido de poliarginina.

4. Un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula (II):

$$Y^3X^1X^2KWX^3XX^5X^6X^7Y^4 \quad (II)$$

en la que

la secuencia X^1 a X^7 se selecciona de WYKWMKKHH, WYKWMKKAA y WYKWMKK; y

Y^3 y Y^4 están ausentes o son un péptido que comprende una secuencia que comprende una fracción de penetración celular, siempre que esté presente al menos uno de Y^3 y Y^4;

en el que al menos los aminoácidos del terminal N y terminal C de dicho péptido están en la conformación D.

5. Un péptido de acuerdo con la reivindicación 4, en el que Y^3 y/o Y^4 es un péptido que comprende un polímero catiónico de aminoácidos básicos como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en relación con Y^1 y/o Y^2.

6. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho péptido tiene la secuencia seleccionada de:

WYKWMKKHHRRRRRRRRR;

WYKWMKKAARRRRRRRRR; y

WYKWMKKRRRRRRRRR.

7. Un péptido de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho fracción de penetración celular comprende la secuencia de aminoácidos

$$X^9Q\ X^{10}X^{11}X^{12}W\ F\ Q\ N\ X^{13}\ X^{14}\ M\ X^{15}W\ X^{16}\ X^{17}$$

en la que

X^9 es R o Q o está ausente;

X^{10}, X^{12} son cada uno independientemente I o L; y

X^{11}, X^{13}, X^{14}, X^{15}, X^{16} y X^{17} son cada uno independientemente K o R.

en la que dicho fracción de penetración celular comprende opcionalmente la secuencia de 20 aminoácidos:

QIKIWFQNRRMKWKK;

QIRIWFQNRRMKWKK;

QIKIWFQNKRMKWKK;

QIKIWFQNKKMKWKK;

QIRIWFQNRKMKWKK;

QIRIWFQNRRMRWKK;

QIRIWFQNRRMKWRK;

QIRIWFQNRRMKWKR;

QIRIWFQNRRMKWRR;

QIRIWFQNRRMKWKK;

QIKIWFQNRRMKWRK;

QIRIWFQNKRMKWRK;

QIKLWFQNRRMKWKK,

QLKLWFQNRRMKWKK; o

QLRIWFQNRRMKWKK.

8. Una composición farmacéutica que comprende un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y uno o más excipientes, diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables.

9. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, opcionalmente en la que el uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan cada uno de los agentes citotóxicos y quimioterapéuticos.

10. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para uso como un producto farmacéutico.

11. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento o prevención de una afección o trastorno en el que se produce una división celular aberrante.

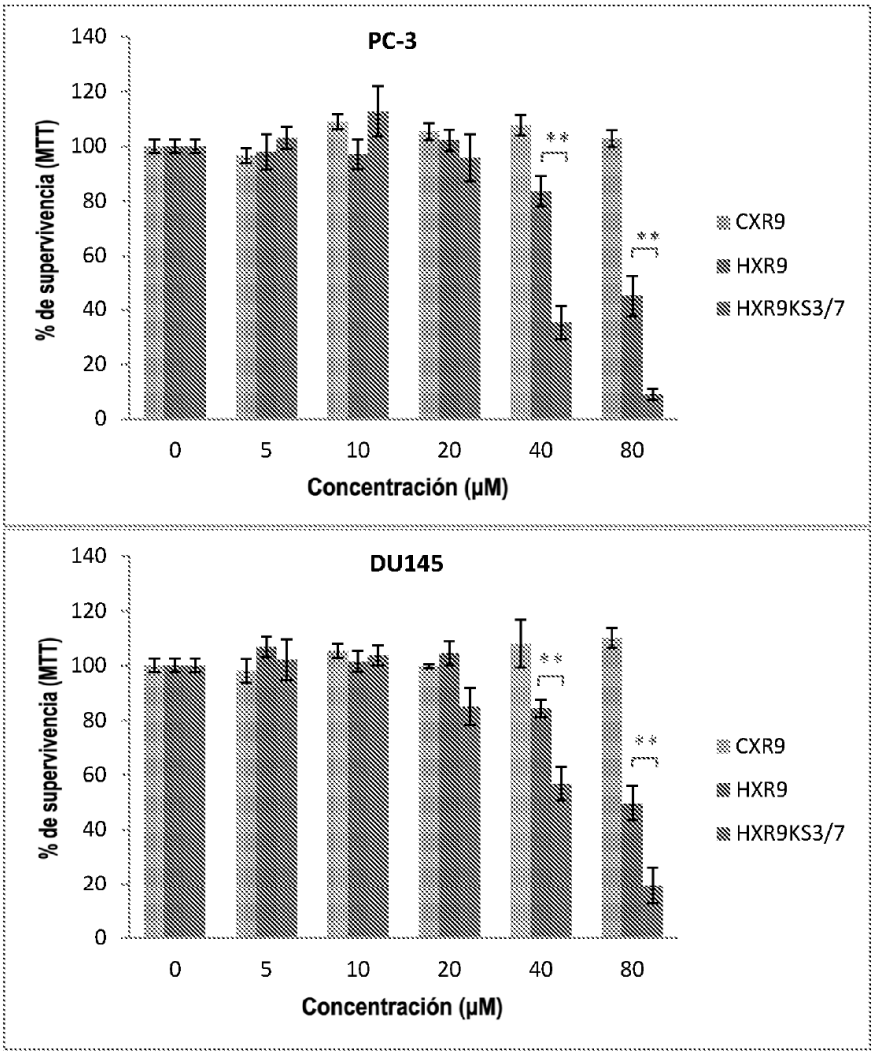
12. Un péptido de acuerdo con la reivindicación 11 para su uso de acuerdo con la reivindicación 11 en el que dicho trastorno es un cáncer.

13. Un péptido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para uso en la reducción de los efectos secundarios de un agente citotóxico o quimioterapéutico.

14. Un péptido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para uso en el mantenimiento o expansión de una población de células madre *in vivo*.

15. Un método para mantener o expandir células madre *ex vivo* que comprende poner en contacto dichas células madre con un péptido como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

Figura 1: Efecto de los péptidos en la viabilidad celular in vitro



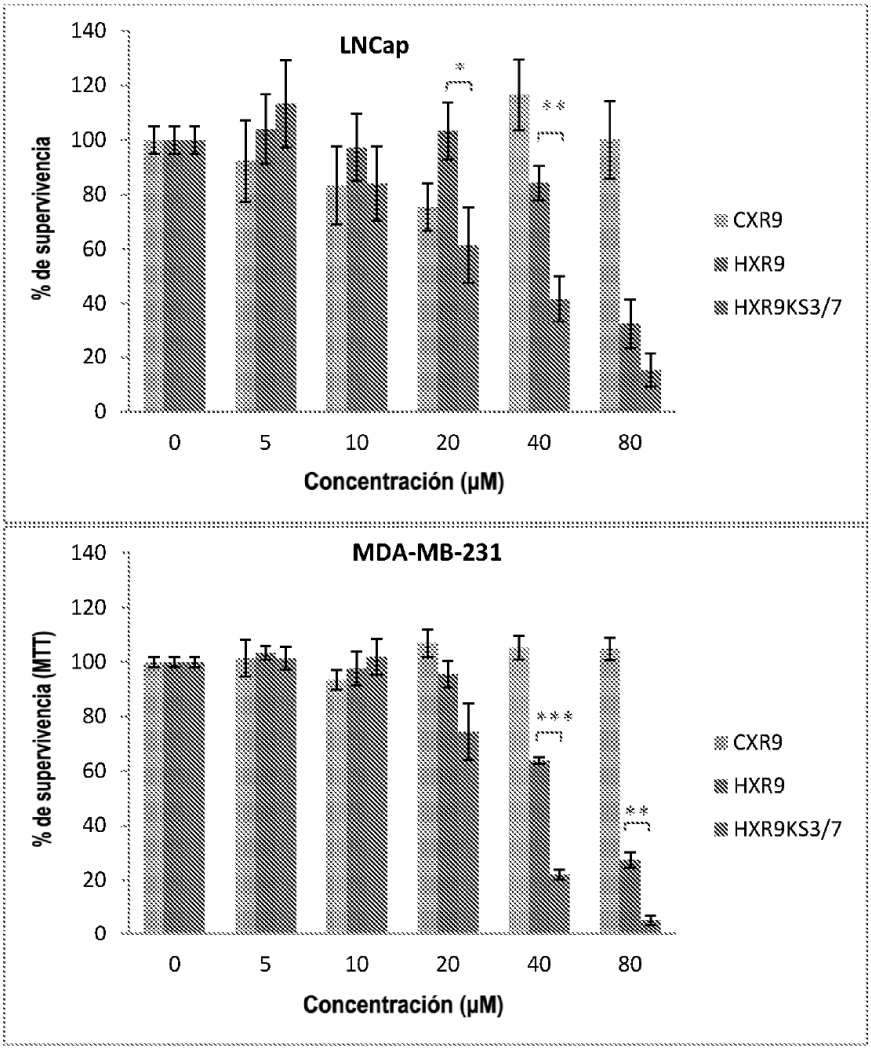
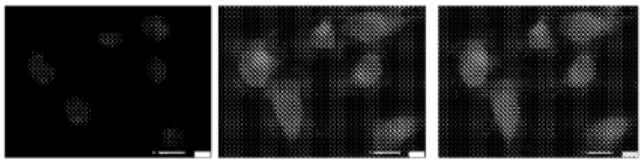

LNCap
% de supervivencia
140
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
20
40
80
Concentración (µM)
*
**
CXR9
HXR9
HXR9KS3/7
MDA-MB-231
% de supervivencia (MTT)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
20
40
80
Concentración (µM)
***
**
CXR9
HXR9
HXR9KS3/7

Figura 2: Células teñidas con DAPI (a); incubadas con HTL001-FITC (b); y la imagen del compuesto resultante (c); HTL001/7FAM5 entra al citoplasma y los núcleos de las células PC3 in vitro después de ser incubadas con 1.3 µM de HTL001 etiquetado con FAM5 (verde) durante 2 horas. Los núcleos de las células se tiñeron usando DAPI (azul). Amplificación x40



a) b) c)

Figura 3: expresión de cFOS en células PC3 después de tratamiento con HTL001

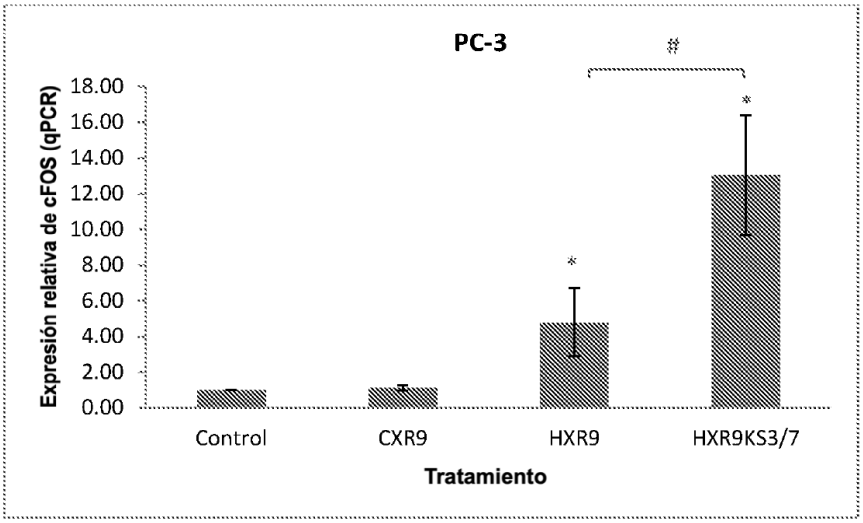


Figura 4: Ensayo de Anexina V-FITC (para apoptosis)

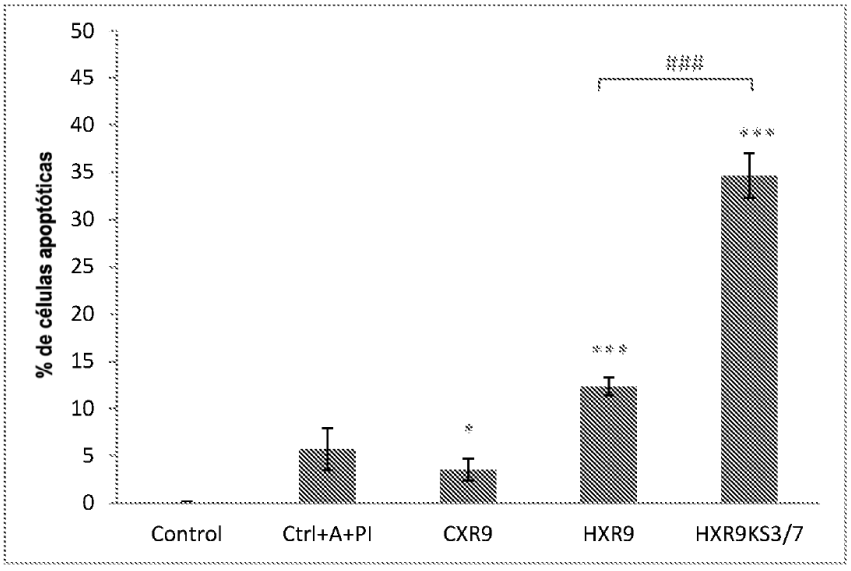


Figura 5: Volumen tumoral relativo medio tratado con HXR9KS3/7 respecto a ratones inyectados con PBS en función del tiempo

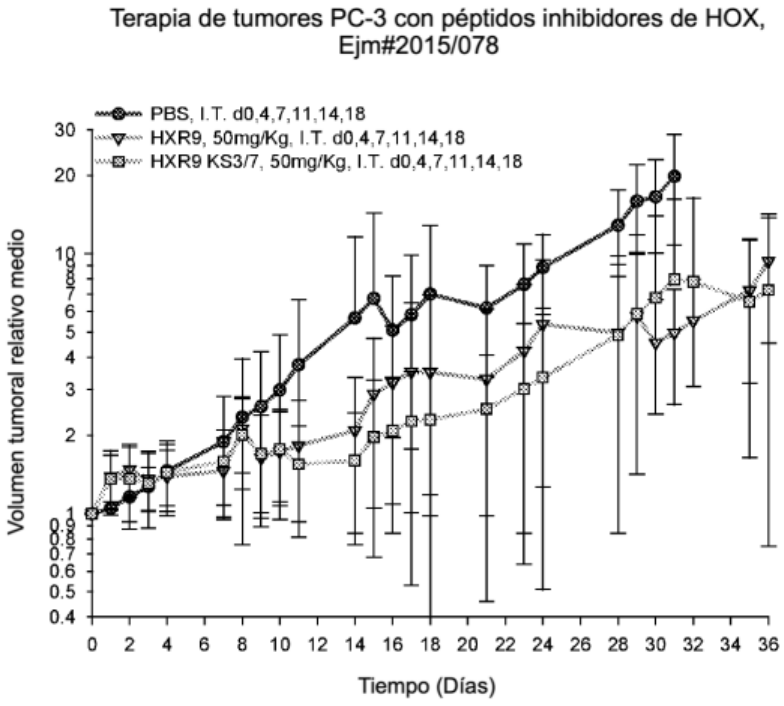


Figura 6: % de Peso corporal relativo medio de ratones con tumores tratados con HXR9KS3/7 (HTL001) con respecto a ratones inyectados con PBS en función del tiempo

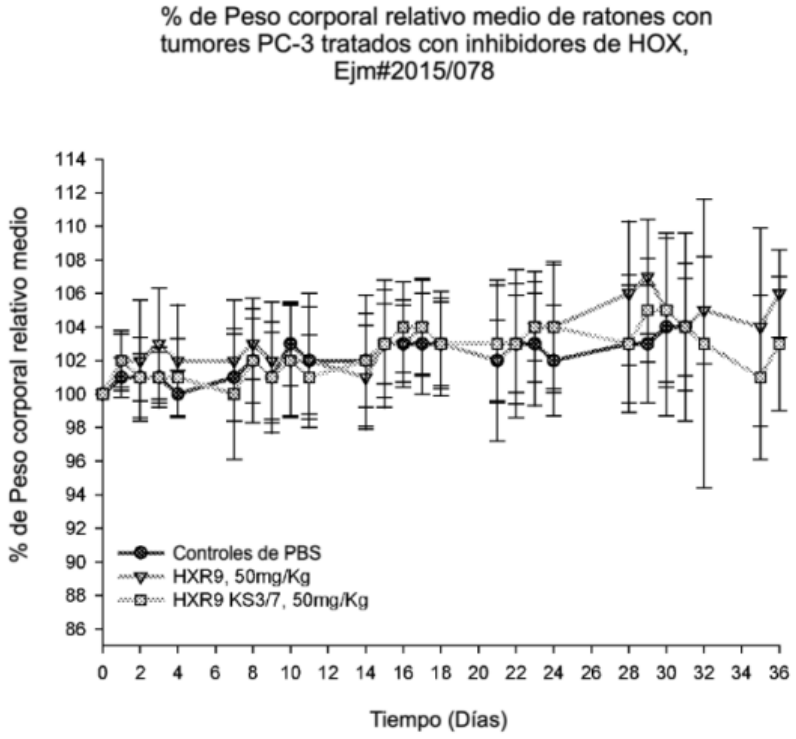


Figura 7: Tiempo para doblar y triplicar el tumor, respecto a ratones inyectados con PBS

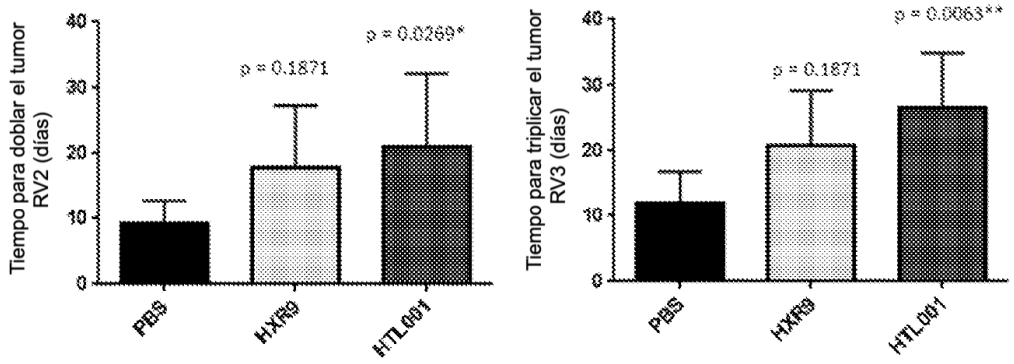


Figura 8: Diagrama esquemático para ensayar el dímero HOXB4/PBX2

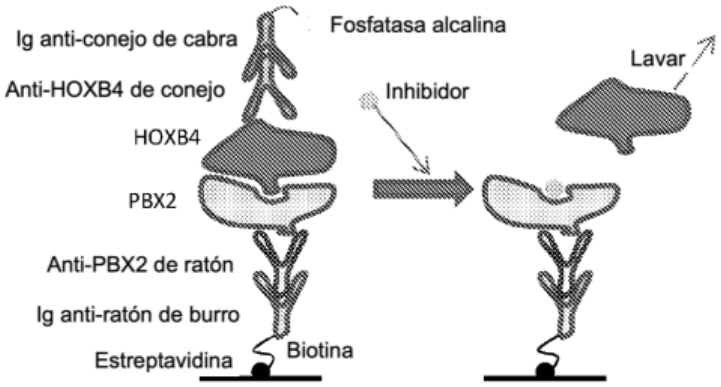


Figura 9: Expresión de proteína DUSP1 en xenoinjertos tumorales de línea celular PC3

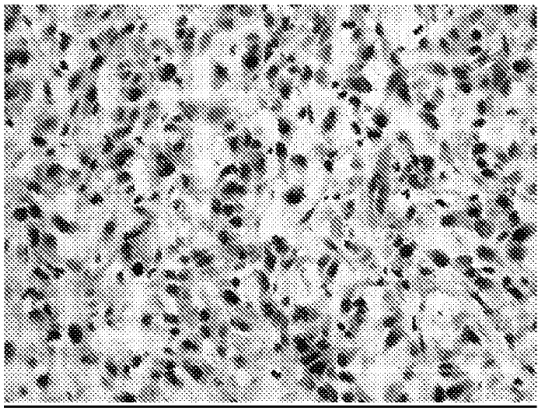


Figura 9a: Expresión de proteína DUSP1 en xenoinjertos tumorales de línea celular PC3 inyectados con PBS

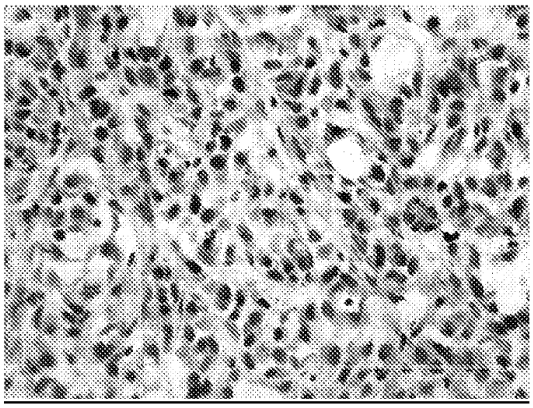


Figura 9b: Expresión de proteína DUSP1 en xenoinjertos tumorales de línea celular PC3 tratados con HXR9

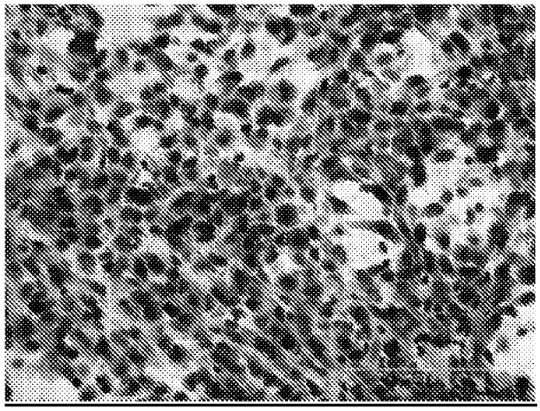


Figura 9c: Expresión de proteína DUSP1 en xenoinjertos de tumores de línea celular PC3 tratados con HTL001