INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: **PT 1173476 E**

(51) Classificação Internacional:
C07K 14/415 (2006.01) ***C07K 16/00*** (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2000.04.30**

(30) Prioridade(s): **1999.04.30 US 0303814**

(43) Data de publicação do pedido: **2002.01.23**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.10.17**
001/2007

(73) Titular(es):
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA
12TH FLOOR, 1111 FRANKLIN STREET
OAKLAND, CALIFORNIA 94607-5200 **US**

(72) Inventor(es):
BENITO O. DE LUMEN **US**
ALFREDO, F. GALVES **US**

(74) Mandatário:
VÍTOR LUÍS RIBEIRO CARDOSO
LARGO DE SÃO DOMINGOS, Nº1 2910-092 SETÚBAL **PT**

(54) Epígrafe: **NUTRACÊUTICOS À BASE DE PROTEÍNA DE SOJA**

(57) Resumo:

Descrição

Nutracêuticos à base de proteína de soja

Introdução

Campo da invenção

O campo da invenção diz respeito às proteínas de soja com efeitos quimiopreventivos.

Antecedentes da invenção

O conceito que factores dietéticos desempenham um papel importante na etiologia de tipos diferentes de cancro, é bem suportado por dados epidemiológicos (World Cancer Fund, 1997). Por exemplo, existem muitas evidências para sugerir que as dietas que contém uma grande quantidade de produtos de soja estão associados a baixas taxas de mortalidade total de cancro, particularmente para cancros do cólon, mama e próstata, o que dá um impulso na direcção para a identificação de componentes específicos em soja que podem ser responsáveis para os efeitos preventivos do seu cancro (Messina and Barnes, 1991; Kennedy, 1995).

Um inibidor de protease derivado do soja, inibidor Bowman-Birk (BBI), têm demonstrado ser um agente quimiopreventivo particularmente eficaz (Kennedy, 1998). O BBI foi caracterizado como uma proteína de 8 kD de sequência e estrutura definida (revista por Birk, 1985), contudo, a maioria dos estudos que demonstram a eficácia do BBI, têm usado BBIC, um extracto enriquecido de soja em BBI. O BBIC é altamente eficaz na supressão da carcinogénese (1) induzido

por vários carcinógenos diferentes, (2) em três sistemas modelo de animais diferentes (ratazanas, ratos e hamsters) e nos sistemas de transformação *in vitro* (Kennedy et al, 1993), (3) em vários tecidos/órgãos (cólon, fígado, pulmão, esófago e epitelio oral, (4) quando administrado a animais de várias formas diferentes (ip, iv, tópica, dietético), (5) envolvendo tipos diferentes de tumores (carcinomas de célula escamosa, adenocarcinomas, angiosarcomas, etc., (6) em tipos diferentes de célula (células epitelial no fígado, cólon, pulmão, esófago e bolsa bucal assim como células de tecido conectivo (fibroblastos tanto *in vitro* assim como no fígado) o que dá origem aos angiosarcomas. Deste modo, a capacidade quimiopreventiva de BBIC foi demonstrada numa variedade de sistemas de análise de carcinogéneses diferentes, atingindo um estatuto de *Investigational New Drug da FDA* em 1992 (IND n°34671) e agora em testes clínicos humanos.

Literatura citada

Birk (1985) *The Bowman-Birk Inhibitor. Int J Peptide Protein Res* 25:113-131 Brehm A, Miska EA, McCance DJ, Reod JL, Bannister AJ and Kouzarides T. (1998) Proteína retinoblastoma alcança a histona deacetilase para a transcrição reprimida. Nature 391:597-601.

Clawson GA (1996) Inibidores de protease e carcinogenese: Uma análise. Investigação cancerígena 14(6):597-608.

Da Silva Conceição A, and Krebbers E. (1994). Uma região reguladora de cotilédone é responsável para os padrões de expressão regional de *Arabidopsis* genes albumina 2S. Plant J. 5:493-505.

DePinho RA (1998) A ligação cancro-cromatina. Nature 391:533-536.

Erickson, H.P. (1997). FtsZ, Um homologo tubulina numa divisão de célula procariota. Inclina-se para a célula Biol. 7: 362-367.

Galvez AF and de Lumen BO (1999) Um cADN de soja que codifica um peptídeo de ligação de cromatina, inibe a mitose das células mamíferas. *Nature Biotechnology* 17:495-500.

Galvez AF, Revilleza MJ and de Lumen BO (1997) Uma proteína rica em metionina nova do cotilédone de soja: clonagem e caracterização de cADN (Accession n° AF005030) *Plant Gene Register.* Plant Physiol 114:1567.

Harlow E and Lane D (1988) Anticorpos: Um lab manual. P342. *Cold Spring Harbor Lab. Hassig CA, Fleischer TC, Billin NA, Schreiber SL and Ayer DE (1997)* É requerida histona deacetilase para a repressão transcricional completa através de mSin3A. Cell 89:341-347.

Hauxwell AJ, Corke FMK, Hedley CL and Wang J. (1990). O armazenamento da expressão do gene da proteína está localizado em regiões onde falta actividade mitótica no desenvolvimento de embriões de ervilhas: uma análise de desenvolvimento da semente em *Pisum sativum* XIV. Desenvolvimento 110:283-289.

Kennedy AR (1993a) Prevenção do cancro através de inibidores protease. *Preventive Med* 22:796-811. Kennedy AR (1993b) Mecanismos potenciais de anti-tumorigenese através de inibidores protease. Em Mecanismos *Ntimutagenesis* e *Anticarcinogenesis* III, pp. 301-307. G. Bronzetti et al (eds). Plenum Press, New York.

Kennedy AR (1994) Prevenção de carcinogenese através de inibidores protease. *Cancer Res* (Suppl) 54:1999S-2005S.

Kennedy AAR (1995) A evidência de produtos de soja como agentes de prevenção contra o cancro. J Nutr 125:733S-743S.

Kennedy AR (1998) O inibidor Bowman-Birk de soja como agente anti-carcinogénico. Am J Clin Nutr 68 (suppl):1406-1412S.

Kennedy AAR and Little JB (1978) Radiação de supressão de

inibidores de protease induzido de transformação maligna *in vitro*. *Nature* (Lond) 276:825-826.

Kennedy AAR, BF Szuhai, P Newberne and Billings PC (1993) Preparação e produção de um agente quimiopreventivo de cancro, concentrado de inibidor Bowman-Birk. *Nutr Cancer* 19:281-302.

Laherty CD, Yang WM, Sun JM, Davie JR, Seto E and Eisenman RN (1997) Deacetilases histona associadas com o vasoconstritor do centro mSin3 mediante repressão transcricional mad. Cell 89: 349-356.

Magnaghi-Jaulin L. Groisman R, Naquibneval, Robin P, Lorain S, Le Villain JP, Troalen F, Trouche D and Harel-Bellan A. (1998) A Proteína retinoblastoma reprime a transcrição ao alcançar uma deacetilase histona. *Nature* 391: 601-605.

Messina M and Bames S (1991) O papel de produtos de soja na redução do risco de cancro. *J Natl Cancer Institute* 83:541-546.

Odani, S., Koide, T and Ono, T. 1987. Sequência de amino ácido de uma semente de soja (Glycine max) polipeptídeo com uma estrutura poli (L-ácido aspártico). J. Biol. Chem. 262, 10502-10505.

Pazin M and Kadonaga JT (1997) O que sobe e desce com a deacetilação e a transcrição da histona? Cell 325-328.

Spencer D and Higgions TJV (1981). Aspectos moleculares de biossíntese de proteína da semente. *In Commentaries in Plant Science, ed. Smith H. (pergamon Press, New York) Vol. 2 pp. 175-189.*

World Cancer Fund/American Institute for Cancer Research (1997) Alimentação, nutrição e a prevenção do cancro: uma perspectiva global. *American Institute of Cancer Research. Washington DC.*

Yavelow J, Collins M, Birk Y, Troll W and Kennedy AR (1985) Concentrações nanomolares da transformação induzida *in vitro* do Raio-X suprimido do inibidor de protease Bowman-Birk. Proc

Natl Acad Sci USA 82:5395-5399.
Yavelow J, Finlay TH, Kennedy AR and Troll W. (1983) Inibidor de protease de soja Bowman-Birk como um anti-carcinogene. *Cancer Research (SUPPL)* 43:2454s2459s3.

Sumário da invenção

A invenção providencia o uso de um polipeptídeo *lunasin* no fabrico de fórmulas para distribuir quantidades eficazes de *lunasin* como um nutracêutico. Em particular, a invenção providencia o uso de um polipeptídeo *lunasin* que compreende a sequência aminoácida de SEQ ID NO:1 ou um fragmento activo que compreende pelo menos o motivo Arg-Gly-Asp seguido de pelo menos um motivo hexa-Asp/Glu no fabrico de uma fórmula de quimioprevenção do cancro, em que a dita fórmula compreende pelo menos 50% do peso do polipeptídeo do dito polipeptídeo *lunasin* e menos que 10% do peso do polipeptídeo do polipeptídeo inibidor Bowman-Birk. Noutras realizações, a composição compreende pelo menos 70%, preferivelmente pelo menos 90%, mais preferivelmente pelo menos 98%, o mais preferível 100% do peso do polipeptídeo do dito polipeptídeo *lunasin* e menos que 2%, preferivelmente menos de 0.5%, o mais preferível menos de 0.1%, o mais preferível 0% do peso do polipeptídeo do peptídeo inibidor Bowman-Birk. As fórmulas podem ser distribuídas ou administradas por qualquer uma da ampla variedade dos métodos de distribuição convenientes bem conhecidos da técnica, (ver por exemplo, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition)* incluindo ingestão oral, ao contactar topicamente com a pele usando técnicas bem conhecidas para a distribuição cutânea, ao introduzir nos fluídos fisiológicos retidos tais como o sangue, fluído sinovial, fluído intersticial, etc.

Noutras realizações, a fórmula é para:

- administração oral de um polipeptídeo de *lunasin*;
- administração tópica de um polipeptídeo de *lunasin* ao contactar com a pele com a dita fórmula; ou
- introdução da dita fórmula no fluído fisiológico acumulado na administração de um peptídeo de *lunasin*.

Métodos para fazer fórmulas sujeitas a purificar os polipeptídeos de *lunasin* para a pureza requerida, e combinando o dito polipeptídeo de *lunasin* com um excipiente farmaceuticamente aceitável numa dosagem de unidade oralmente activa, são aqui também descritos. O material fonte de *lunasin* pode ser soja, um sistema de expressão de polipeptídeo de *lunasin* recombinado, uma *lunasin* sinteticamente produzida, ou extracto ou fracção. Excipientes e dosagens adequados são prontamente determinados empiricamente como direccionados ao existir dados BBIC.

Descrição particular de realizações particulares da invenção

As seguintes descrições de realizações particulares e exemplos são oferecidos através de ilustração e não por limitação pelo contrário, e a menos que contra-indicados ou apontados, nestas descrições e através desta especificação, os termos "a" e "an" significam um ou mais, o termo "or" significa e/ou e sequências de polinucleótido são entendidas para rodear as margens opostas assim como partes mais importantes alternativas aqui descritas.

Foi mostrado que um pequeno peptídeo sub-unidade de albumina 2S isolado da semente da soja, ao qual foi chamado de *lunasin*, tem um efeito anti-mitótico quando expresso nas células

mamíferas (Galvez AAF and Lumen BO, 1999 and USSN 08/938,675). Ao contrário de outros agentes anti-mitóticos que interrompem a função do microtúbulo, foi mostrado que quando o gene *lunasin* é transfectado e expresso dentro da célula, o *lunasin* obriga preferencialmente à cromatina hipoacetilada em células transfectadas-*lunasin*, levando à deslocação de proteínas cinetocoro durante a mitose.

O polipeptídeo *lunasin* também contém um motivo funcional RGD (arg-gly-asp). Quando exogenicamente aplicado às culturas de células mamíferas, o *lunasin* através do tripeptídeo RGD liga às integrinas da membrana da célula e subsequentemente entra no citoplasma através de uma rotação na membrana. As quantidades relativamente pequenas de *lunasin* que entram no núcleo através de difusão passiva e na prometafase (quando o colapso da membrana nuclear ocorre) são suficientes para ligar efectivamente regiões de cromatina hipoacetilada. Contudo, ao contrário das células transfectadas de *lunasin* que expressam constitutivamente *lunasin* em altas quantidades, a *lunasin* interiorizada parece não afectar a união do cinetocoro à medida que as células suportam a mitose normal. Em vez disso, a *lunasin* inibe a transformação de células de fibroblasto de embrião normal em tumores cancerígenos através de agentes carcinogénicos. A afinidade ligante de *lunasin* a regiões de nucleossomas deacetilados é consistente com um papel anti-carcinogénico de *lunasin* como um supressor de tumor que é substituído ao prevenir a acetilação cromatina e activação oncogene em células como genes supressores de tumor mutante. A propriedade de adesão da célula de *lunasin* também confere um benefício adicionado de prevenção da expansão do cancro ao ligar competetivamente às integrinas da membrana requeridas pelas células metastáticas para anexo para a matriz extracelular e para proliferação.

Também se demonstrou que o inibidor protease Inibidor Bowman-Birk (BBIC) derivado do soja, que tem mostrado ser quimiopreventivo contra diferentes tipos de cancros em modelos animais *in vitro* e *in vivo*, contém como componente principal a *lunasin*. De facto, a remoção da *lunasin* do BBIC através de imuno-depleção, reduz significativamente a capacidade do BBIC para inibir a transformação carcinogénica-mediada de células C3H. Adicionalmente, usando quantidades equimolar, foi descoberto que a *lunasin* se mostrou mais eficaz que o BBIC na prevenção da formação do tumor induzido por carcinógeno. Essas descobertas indicam que a *lunasin* é um, se não mesmo o, componente activo anti-carcinogénico do BBIC.

Consequentemente, como aqui usado, o termo *lunasin* refere-se a componentes que compreendem o polipeptídeo *lunasin* de soja natural (coincidentemente purificado e sequenciado por Odani et al., 1987 (Ser Lys Trp Gln His Gln Asp Ser Cys Arg Lys Gln Leu Gln Gly Val Asn Leu Thr Pro Cys Glu Lys His ||e Met Glu Lys ||e Gln Gly Arg Gly Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp, SEQ ID NO:1) e fragmentos activos que compreendem pelo menos o motivo Arg-Gly-Asp seguido por pelo menos um motivo hexa-Asp/Glu. Os polipeptídeos *lunasin* preferidos compreendem resíduos 33-43, preferivelmente 21-43, mais preferivelmente 10-43 e o mais preferível 1-43 da SEQ ID NO:1. Componentes exemplares *lunasin*-del (usando outra vez a convenção de nomenclatura N→C) mostrando ser eficaz em carcinogenese inibindo *in vitro* e modelos animais incluindo:

Lusanin-del-1:MRG-resíduos 32-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-2: α-tubulina-resíduos 32-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-3: β-tubulina-resíduos 27-42 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-4: MAP2-resíduos 5-43 de SEQ ID NO:2 fusão
Lusanin-del-5: Mapmodulina-resíduos 32-43 de SEQ ID NO:1 fusão

Lusanin-del-6: GFP-resíduos 32-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-7: MAP4-resíduos 23-42 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-8: FLAGG-resíduos 9-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-9: Ciclina A-resíduos 32-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-10: Ciclina B1-resíduos 32-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-11: Ciclina B2-resíduos 19-42 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-12: Ciclina B3-resíduos 13-43 de SEQ ID NO:1 fusão
Lusanin-del-13: SH2-octa-aspartático fusão
Lusanin-del-14: SH3-octa-aspartático fusão
Lusanin-del-15: SEQ ID NO:1, resíduos 27-34-MRG-octa-fusão aspartático
Lusanin-del-16: SEQ ID NO:1, resíduos 27-34-SEQ ID NO:1, resíduos 27-34-octa-fusão aspartático
Lusanin-del-17: fusão MRG-tetra-aspartático-tetra glutamato

Lusanin Peptide Inhibits Carcinogen-mediated Transformation de C3H 10T1/2 Mouse fibroblast Cells Into Tumor Cells. Experiências feitas usando o mesmo exame de transformação *in vitro* usado para determinar a propriedade quimiopreventiva do BBIC, mostraram que a aplicação exógena do peptídeo *lunasin* para tão baixo como 10 nM (10nM para 10mM) inibe a transformação das células fibroblasto do embrião do rato normal (C3H 10T1/2) no focos tumoroso através de agentes carcinogénicos, MCA (3-methylcholanthrene) e DMBA *(7,12-dimethylbenz [a] anthracene)*. Supressão da extremidade carboxil acídica (*lunasin*-del-C) e o motivo de adesão da célula RGD (*lunasin*-GRG), remove o efeito de inibição indicando que esses domínios são essenciais.

A *Lunasin* é o principal componente do inibidor Bowman-Birk de Protease (BBIC) de soja, a uma substância conhecida na prevenção do Cancro. Os inibidores protease, ao contrário de outras classes potenciais de prevenção de cancro que foram

estudados, têm vários aspectos que foram vistos que também são verdadeiros para *lunasin*. A diferença mais dramática é a sua capacidade de afectar a carcinogenese numa maneira irreversível. Quando a administração do BBIC é parada nas experiências *in vitro* ou *in vivo*, as células malignas ou tumores não surgem nos sistemas dos exames usados (Kennedy, 1994). Em contraste, agentes quimiopreventivos tais como vitamina E, b-caroteno e retinóides têm um efeito reversível em sistemas *in vitro*- células transformadas surgem quando estes agentes quimiopreventivos são removidos das células de cultura tratadas com carcinógeno. Os inibidores protease também são ao contrário de outros agentes quimiopreventivos em que eles são eficazes em níveis extremamente baixos (nM) enquanto que outros agentes só são eficazes em níveis muito altos (mM). A resposta dose da supressão BBIC de carcinogenese não é usual em que os níveis dose do BBIC tem os mesmos efeitos supressores sobre uma extensão que varia em várias ordens de magnitude. Em terceiro lugar, a capacidade de enganar dos inibidores protease para suprimir tantos cancros diferentes, fá-los diferentes da maioria dos agentes quimiopreventivos. As suas propriedades anti-cancerígenas não são restritas a órgãos/tecidos específicos.

A *Lunasin*, como o BBIC, pertence à mesma classe da família de albuminas 2S e são ambos preparados de formas similares. Foi descoberto que as análises *Western blot* que a *lunasin* é o componente principal das preparações de BBIC comercialmente disponíveis (Sigma). Num *blot* exemplar, a opção 3 que contém uma preparação crua de inibidor de Tripsina (Sigma T 9128, tipo II_S pó solúvel de soja) mostrou uma banda de proteína principal a 16kDa que ilumina no *Western Blot*. O BBI é uma proteína 8 kDa que é conhecida para dimerizar em solução. A opção 4 que contém BBIC (Sigma T9777, Inibidor Bowman-Birk, do

pó liofilizado de soja) mostrou duas bandas de proteínas, 8 kDa e 16 kDa, que iluminam no *Western Blot*. A *Lunasin* que tem 2 resíduos de cistina, pode formar ligações de disulfido com BBI (como um monómero e um dímero) que tem 14 resíduos de cistina. Isto mostra claramente que a *lunasin* é encontrada no BBIC como o componente principal. Além disso, é mostrado que a remoção da *lunasin* do BBIC através da coluna de afinidade do anticorpo de *lunasin* e por tratamento de resina, reduz significativamente a capacidade do BBIC de inibir a transformação de células C3H. Esta prova juntamente com a capacidade da *lunasin* para inibir a transformação carcinógeno-mediado das células C3H indicam que a *lunasin* é uma principal, senão mesmo a molécula quimiopreventiva activa no BBIC. De facto, os dados indicam que o BBIC pode agir para proteger que a *lunasin* seja digerida no tracto gastrointestinal. A capacidade que a *lunasin* tem de entrar nas células mamíferas, modulando depois a função cromatina, providencia agora um mecanismo racional para explicar a propriedade quimiopreventiva do BBIC assim como orientação para o uso na *lunasin* como um suplemento nutracêutico ou nutricional, em particular como agente anti-carcinogénico. Por exemplo, substituir a *lunasin* por BBI em doses comparáveis e vias de administração, providencia eficácia nos estudos da célula e de animais (ver, US Pat N°s 5,618,679; 5,616,492; 5,614,198; 5,505,946; 5,376,373; 5,338,547).

Chromatin Modification and Tumor Suppression. A hipótese é que a capacidade de ligação da cromatina de *lunasin* seja o mecanismo subjacente por detrás da propriedade anti-mitótica do gene *lunasin* e a propriedade preventiva de cancro do peptídeo *lunasin*. Uma série de estudos sugere fortemente que a modificação cromatina está ligada com as vias de supressão do tumor. (DePinho, 1998; Brehm et al, 1998; Magnaghi-Jaulin,

1998; Pazin and Kadonaga, 1997; Hassig et al, 1997; Laherty et al, 1997). Por exemplo, a proteína retinoblastoma Rb é complexada com E2F (uma família de factores de transcrição controlada por Rb) e HDAC1 (a deacetilase histona mamífera principal que modula a estrutura cromatina) em células mamíferas. O Rb reprime o promotor regulado E2F ao alcançar HDAC1 que deacetilata núcleos das histonas provocando uma associação mais estreita entre o ADN e nucleossomas, prejudicando deste modo a ligação de factores de transcrição para elementos de reconhecimento no ADN. O complexo Rb/HDAC/E2F pode ser o alvo para transformar vírus que levam à libertação da supressão e um estado completamente transformado. A ligação de *lunasin* para a região hipoacetilada de cromatina pode suprimir tumorigenese num diferente contexto. Enquanto a deacetilação provoca uma associação mais estreita de ADN com nucleossomas em cromossomas condensados que levam à mudança numa estrutura de ordem maior, também expõe cargas positivas nos resíduos lisina que vão permitir que a *lunasin* ligue para as sequências terminais de histona e evite o processo reversível de acetilação/deacetilação. Consequentemente, a expressão do gene é mais ou menos permanentemente reprimida. Estudos animais mostram que a *lunasin* efectivamente sobrevive à digestão, é absorvida e acaba nos tecidos. Esta prova mostra que a *lunasin* é internalizada na célula via o motivo RGD (isto é não há internalização quando o motivo -RGD- é apagado) e entra dentro do núcleo através de difusão passiva devido ao seu tamanho de 4kDa e na prometafase quando o revestimento nuclear colapsa. Eventualmente, a *lunasin* liga com o centro das histonas dos nucleossomas e inibe a transformação da célula na presença de carcinógenos ao reprimir a transcrição como descrito acima.

Listagem de sequência

<110> de Lumen, Benito O.
Galvez, Alfredo F.
<120> Nutracêuticos de proteína de Soja
<130> B99-089
<140> 09/303,814
<141> 1999-04-30
<160> 1
<170> Patente In Ver. 2.0
<210> 1
<211> 43
<212> PRT
<213> soja
<400> 1

Ser Lys Trp Gln His Gln Gln Asp Ser Cys Arg Lys Gln Leu Gln Gly
1 5 10 15

Val Asn Leu Thr Pro Cys Glu Lys His Ile Met Glu Lys Ile Gln Gly
20 25 30

Arg Gly Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
35 40

Lisboa, 05 de Dezembro de 2006

Reivindicações

1. Uso de um polipeptídeo *lunasin* que compreende a sequência aminoácido de SEQ ID NO:1 ou um fragmento activo que compreende pelo menos o motivo Arg-Gly-Asp seguido de pelo menos um motivo hexa-Asp/Glu no fabrico de uma fórmula para a quimioprevenção do cancro, em que a dita fórmula compreende pelo menos 50% do peso do polipeptídeo do dito polipeptídeo de *lunasin* e menos que 10% do peso do polipeptídeo do polipeptídeo inibidor Bowman-Birk.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende pelo menos 90% do peso de polipeptídeo do dito polipeptídeo *lunasin* e menos que 1% do peso do polipeptídeo do polipeptídeo inibidor Bowman-Birk.

3. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o polipeptídeo *lunasin* compreende 33-43 de SEQ ID NO:1.

4. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o polipeptídeo *lunasin* compreende resíduos 21-43 de SEQ ID NO:1.

5. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o polipeptídeo *lunasin* compreende resíduos 10-43 de SEQ ID NO:1.

6. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o polipeptídeo *lunasin* compreende resíduos 1-43 de SEQ ID NO:1.

7. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o polipeptídeo *lunasin* consiste de resíduos 1-43 de SEQ ID NO:1.

8. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7 em que a dita fórmula serve para a administração oral de um

polipeptídeo *lunasin*.

9. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 7, em que a dita fórmula serve para a administração tópica de um polipeptídeo *lunasin* ao contactar a pele com a dita fórmula.

10. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, em que a dita fórmula serve para a introdução da dita fórmula num fluído fisiológico acumulado para a administração de um polipeptídeo *lunasin*.

Lisboa, 05 de Dezembro de 2006