

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 965 807**

⑮ Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2019 PCT/IL2019/050430**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **07.11.2019 WO19211829**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2019 E 19796594 (0)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2023 EP 3787661**

⑮ Título: **Combinación de temozolomida y un conjugado de PAR-1 para tratar el glioblastoma**

⑩ Prioridad:

02.05.2018 US 201862665531 P

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.04.2024

⑮ Titular/es:

TEL HASHOMER MEDICAL RESEARCH INFRASTRUCTURE AND SERVICES LTD.

(100.0%)

The Chaim Sheba Medical Center, Tel HaShomer 5262000 Ramat-Gan, IL

⑮ Inventor/es:

CHAPMAN, JOAB y SHAVIT-STEIN, EFRAT

⑮ Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

Observaciones:

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

ES 2 965 807 T3

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

DESCRIPCIÓN

Combinación de temozolomida y un conjugado de PAR-1 para tratar el glioblastoma

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una terapia combinada para el glioblastoma. En particular, la presente invención se refiere a una combinación de un conjugado peptídico derivado del extremo N-terminal de PAR-1, un receptor involucrado en la proliferación de gliomas, y a una quimioterapia para el tratamiento del glioblastoma.

10

10 **Antecedentes de la invención**

El glioblastoma multiforme (GBM o simplemente "glioblastoma") es el más común y más agresivo de los tumores cerebrales primarios malignos en adultos, y es uno de un grupo de tumores a los que se denomina gliomas (tumores que se originan a partir de células gliales). El GBM está clasificado como astrocitoma de grado IV, y se desarrolla a partir de astrocitos, las células gliales en forma de estrella que dan soporte a las células nerviosas. El GBM se desarrolla principalmente en los hemisferios cerebrales, pero puede desarrollarse en otras partes del cerebro, en el tronco encefálico o la médula espinal.

20

El GBM se caracteriza por una rápida proliferación celular y una marcada propensión a invadir y dañar el tejido cerebral normal circundante, lo que hace imposible una eliminación quirúrgica completa. A pesar de los tratamientos disponibles, que incluyen la resección quirúrgica, la quimioterapia y la radioterapia, la gran mayoría de los pacientes presentan una mediana de supervivencia baja, de menos de 15 meses después del diagnóstico. Por lo tanto, el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos para tratar el GBM sigue siendo de importancia crítica.

25

El documento WO 2015/173802, al cesionario de la presente invención, describe un conjugado peptídico que comprende un resto protector de alfa-amino, un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de al menos 3 aminoácidos de longitud derivada del extremo N-terminal de PAR-1, o una variante activa del mismo, y un resto incapacitante de proteasa. Entre otros conjugados peptídicos, se describe el conjugado tosilo-ATLDPR-clorometilcetona. El documento WO 2015/173802 describe además el uso de los conjugados peptídicos en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la actividad excesiva del receptor de proteasa, incluidos glioma, astrocitoma, cáncer, tumor sólido, tumor cerebral, glioblastoma, oligodendrogioma, ependimoma, gliomas mixtos y glioblastoma multiforme.

35

A pesar de los amplios esfuerzos realizados hasta ahora, la mediana de tiempo de supervivencia de los pacientes con GBM sigue siendo muy baja, en parte debido a la falta de opciones terapéuticas adecuadas. Sigue existiendo la necesidad de tratamientos más eficaces para tumores cerebrales malignos tales como el GBM.

40 **Resumen de la invención**

40

La presente invención proporciona, según algunos aspectos, terapias combinadas para gliomas malignos, particularmente glioblastoma, usando un conjugado peptídico derivado del extremo N-terminal de PAR-1, un receptor involucrado en la proliferación de gliomas, y el agente quimioterapéutico temozolomida. En realizaciones particulares, las terapias combinadas descritas en la presente memoria utilizan un conjugado peptídico que comprende 3-20 aminoácidos del extremo N-terminal de PAR-1 conjugados con un resto protector de alfa-amino y un resto incapacitante de proteasa, en combinación con temozolomida.

45

La presente invención se basa en parte en el sorprendente efecto sinérgico de una combinación del conjugado peptídico tosilo-Ala-Thr-Leu-Asp-Pro-Arg-clorometilcetona, denominada en la presente memoria "SIXAC" y temozolomida (TMZ) para reducir la proliferación de células de glioma *in vitro*, y la mejora significativa en la supervivencia obtenida por esta combinación en un modelo *in vivo* de glioblastoma, incluso para tumores de alto grado. Sorprendentemente, se encontró que un efecto inhibidor importante sobre la proliferación de células de glioma se logra con una combinación de SIXAC y TMZ, a concentraciones en las que la TMZ sola es ineficaz y el péptido solo produce un efecto menor. En efecto, el tratamiento con la combinación transformó células cancerosas que son esencialmente resistentes a TMZ en células cancerosas que responden a TMZ, y el resultado es un efecto pronunciado sobre la proliferación de las células cancerosas.

Por lo tanto, la presente invención proporciona un tratamiento más eficaz para gliomas malignos tales como el glioblastoma.

50

En la presente memoria, se describe, pero no se reivindica, un método para tratar el glioblastoma en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto un conjugado peptídico que tiene la siguiente fórmula general:

55

grupo protector α -amino - péptido de PAR-1 - resto incapacitante de proteasa,

en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17,

y administrar temozolomida a dicho sujeto.

5 En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-4.

En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es Ala-Thr-Leu-Asp-Pro-Arg (Id. de sec. n.º: 3).

10 En algunas realizaciones, el resto protector α -amino es tosilo o un derivado del mismo.

10 En algunas realizaciones, el resto incapacitante de proteasa es clorometilcetona o un derivado de la misma.

En algunas realizaciones, el conjugado peptídico es:

15 tosilo-Ala-Thr-Leu-Asp-Pro-Arg-clorometilcetona.

En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra en el sistema nervioso central (SNC) del sujeto. En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra en el SNC del sujeto mediante administración intracerebroventricular (ICV).

20 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra sistémicamente. En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra mediante administración intravenosa o subcutánea.

25 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra desde una vez al día hasta una vez por semana.

25 En algunas realizaciones, la temozolomida se administra por vía oral. En realizaciones adicionales, la temozolomida se administra mediante infusión intravenosa.

30 En algunas realizaciones, el sujeto recibe además radioterapia.

30 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico y la temozolomida se administran el mismo día. En otras realizaciones, el conjugado peptídico y la temozolomida se administran en días separados.

35 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico y la temozolomida se administran concomitantemente en una pluralidad de ciclos de tratamiento durante un período de tiempo de 1-12 meses, en donde cada ciclo de tratamiento comprende la administración concomitante del conjugado peptídico y la temozolomida durante un período de tiempo predeterminado seguido de un período de tiempo en el que no se administran el conjugado peptídico y la temozolomida.

40 En algunas realizaciones, la temozolomida se administra en ciclos de tratamiento, cada uno de los cuales comprende un período de tiempo predeterminado en el que se administra la temozolomida seguido de un período de tiempo en el que no se administra la temozolomida, y el conjugado peptídico se administra continuamente.

45 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra directamente en el tumor. En otras realizaciones, el conjugado peptídico se administra en un área de la cual se ha resecado quirúrgicamente el tumor o una porción del mismo. En realizaciones adicionales, el conjugado peptídico se administra en un área alrededor del tumor.

50 En la presente memoria, se describe, pero no se reivindica, un método para tratar un glioma maligno en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto un conjugado peptídico que tiene la siguiente fórmula general:

grupo protector α -amino - péptido de PAR-1 - resto incapacitante de proteasa,

55 en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º:1-17, y administrar temozolomida a dicho sujeto.

En algunas realizaciones, el glioma maligno es glioblastoma multiforme.

60 Según un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un conjugado peptídico que tiene la siguiente fórmula general:

grupo protector α -amino - péptido de PAR-1 - resto incapacitante de proteasa,

65 en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17,

para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto en combinación con temozolomida.

En algunas realizaciones, el glioma maligno es glioblastoma multiforme.

- 5 Estos y otros aspectos y características de la presente invención resultarán evidentes a partir de la descripción detallada, los ejemplos y las reivindicaciones que siguen.

Breve descripción de las figuras

- 10 **Figura 1.** Efecto de la temozolomida (“TMZ”) y Tosilo-ATLDPR-clorometilcetona (“SIXAC”) sobre la proliferación de células CNS-1 in vitro.

Figura 2. Efecto de la temozolomida (“TMZ”) y Tosilo-ATLDPR-clorometilcetona (“SIXAC”) sobre la supervivencia en un modelo de GBM en ratas.

- 15 **Figura 3.** Niveles de PAR1 (A) y pERK (B) en células de glioma de rata CNS1 después del tratamiento con TMZ, SIXAC o TMZ+SIXAC. El medio solo sirvió como control.

- 20 **Figura 4.** Tasa de cierre de heridas en células de glioma de rata C6 después del tratamiento con TMZ, SIXAC o TMZ+SIXAC. Medio/medio+DMSO sirvieron como controles. (A) Porcentaje de cierre de heridas (B) Una imagen representativa de cultivos raspados antes y después del tratamiento.

Descripción detallada de la invención

- 25 La presente invención proporciona, según un aspecto, una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de tumores cerebrales malignos, particularmente gliomas malignos tales como glioblastoma multiforme. La composición farmacéutica para su uso de la presente invención utiliza una combinación de un conjugado peptídico que comprende una secuencia derivada del extremo N-terminal de PAR-1 y el agente quimioterapéutico temozolomida (TMZ). Se encontró que la combinación tenía un efecto sinérgico en la reducción de la proliferación de células de glioma, y era altamente eficaz para mejorar la supervivencia en un modelo de glioblastoma en ratas, como se exemplifica a continuación en la presente memoria.

30 Los glioma son tumores que se desarrollan a partir de células gliales en el cerebro o la médula espinal, que pueden ser benignos o malignos. Tres tipos de células gliales pueden producir tumores, a saber, astrocitos (astrocitomas), células episómicas (ependimomas) y oligodendrocitos (oligodendroliomas). Los astrocitomas se clasifican en grados de 1 a 4 según la agresividad del tumor, donde los grados 1 y 2 se consideran benignos y los grados 3 y 4, llamados astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme, respectivamente, se consideran malignos.

- 35 Según una realización de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de glioblastoma multiforme en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria y temozolomida. En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de glioblastoma multiforme en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria en el sistema nervioso central (SNC) del sujeto, y administrar temozolomida a dicho sujeto. En otras realizaciones, se proporciona una 40 composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de glioblastoma multiforme en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar sistémicamente al sujeto un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria en combinación con temozolomida.

- 45 Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria al sujeto, por ejemplo, en el SNC del sujeto, y administrar temozolomida a dicho sujeto.

- 50 Según una realización, se proporcionan un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria y temozolomida, para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto, particularmente para su uso en el tratamiento de glioblastoma multiforme.

- 55 Según una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria y una composición farmacéutica que comprende temozolomida, para su uso combinado en el tratamiento de un glioma maligno, particularmente para su uso en el tratamiento de glioblastoma multiforme.

- 60 Según una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria, para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto en combinación con temozolomida, particularmente para su uso en el tratamiento del glioblastoma multiforme.

En la presente memoria se describe, pero no se reivindica, el uso de un conjugado peptídico como se describe en la presente memoria, para la preparación del medicamento para el tratamiento de un glioma maligno en combinación con temozolomida, particularmente para el tratamiento del glioblastoma multiforme.

5 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra en el SNC del sujeto y la temozolomida se administra sistémicamente, por ejemplo, mediante administración por vía oral o intravenosa.

10 En otras realizaciones, el conjugado peptídico se administra sistémicamente, por ejemplo, mediante administración intravenosa o subcutánea, y la temozolomida se administra sistémicamente, por ejemplo, mediante administración oral o intravenosa.

En algunas realizaciones, el glioma maligno es glioblastoma multiforme (astrocitoma de grado 4). En otras realizaciones, el glioma maligno es astrocitoma anaplásico (astrocitoma de grado 3).

15 Como se usa en la presente memoria, "tratar" y "tratamiento" incluyen uno cualquiera o más de inhibir la progresión de la enfermedad, atenuar la progresión de la enfermedad y prevenir el empeoramiento de la enfermedad, incluyendo, por ejemplo, reducir el tamaño del tumor, atenuar o prevenir el crecimiento del tumor y reducir los síntomas asociados con la presencia del tumor. "Tratar" y "tratamiento" también abarcan prolongar la supervivencia de un sujeto más allá de lo esperado en ausencia de tratamiento.

20 Los sujetos que necesitan tratamiento según la presente invención son típicamente sujetos humanos afectados por un glioma maligno tal como el glioblastoma. En algunas realizaciones, los sujetos que necesitan tratamiento incluyen particularmente sujetos afectados por un tumor cerebral maligno que expresa o sobreexpresa PAR-1. El tumor puede ser un tumor primario, un tumor secundario o un tumor recurrente. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

25 El conjugado peptídico y la temozolomida se administran típicamente a sujetos que lo necesitan como composiciones/formulaciones farmacéuticas. Una "composición farmacéutica" contiene típicamente el agente terapéutico mezclado con sustancias auxiliares que facilitan su administración, tales como concentraciones farmacéuticamente aceptables de una o más de: sal(es), agente(s) tamponante(s), conservante(s) y diversos portadores compatibles. Para todas las formas de administración, el agente terapéutico puede formularse en una solución salina, preferentemente a un pH menor que el pH fisiológico.

30 Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse mediante métodos conocidos para la preparación de composiciones farmacéuticamente aceptables adecuadas para la administración a sujetos, de tal manera que una cantidad eficaz del agente terapéutico se combine en una mezcla con las sustancias auxiliares. Dependiendo del modo de administración previsto y del uso previsto, las composiciones pueden estar en forma de formas farmacéuticas sólidas, semisólidas o líquidas, tales como, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, soluciones, polvos, gránulos, cristales, líquidos, suspensiones, liposomas, nanopartículas, nanoemulsiones, etc.

35 40 El conjugado peptídico y la temozolomida se usan según la presente invención en cantidades terapéuticamente eficaces. Como se usa en la presente memoria, una "cantidad terapéuticamente eficaz" indica una cantidad de un compuesto que se espera que sea eficaz para tratar la enfermedad, como se definió anteriormente. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz entra totalmente dentro de las competencias de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada y los ejemplos proporcionados en la presente memoria.

45 La dosificación de los agentes terapéuticos dependerá, entre otras cosas, del estado del sujeto, del tipo particular de tumor que se esté tratando y de la vía de administración.

50 55 La temozolomida (TMZ) es un agente alquilante aprobado para su uso en el tratamiento de pacientes con gliomas malignos, tales como glioblastoma multiforme o astrocitoma anaplásico. Como se usa en la presente memoria, "temozolomida" también abarca sales farmacéuticamente aceptables de temozolomida.

60 La TMZ está aprobada para su uso como monoterapia y también en combinación con radioterapia focal. En pacientes con glioblastoma multiforme recién diagnosticado, la TMZ se administra típicamente en combinación con radioterapia focal (fase concomitante) seguida de hasta 6 ciclos de monoterapia con TMZ (fase de monoterapia).

65 En la fase concomitante, la TMZ se administra típicamente diariamente durante varias semanas concomitantemente con radioterapia focal, por ejemplo, se administra por vía oral a una dosis de 75 mg/m² diariamente durante 42 días concomitantemente con radioterapia focal (60 Gy, se administra en 30 fracciones).

70 En la fase de monoterapia, la TMZ se administra típicamente durante hasta 6 ciclos de tratamiento, estando cada ciclo compuesto de 28 días. La dosis en el Ciclo 1 es típicamente de 150 mg/m² una vez al día durante 5 días, seguidos de 23 días sin tratamiento. Al comienzo del Ciclo 2, la dosis se aumenta a 200 mg/m² si la condición del paciente lo permite. Si se aumenta, la dosis permanece a 200 mg/m² por día durante los primeros 5 días de cada ciclo, excepto si se produce la toxicidad.

La TMZ está disponible comercialmente como cápsulas duras para administración oral que contienen 5 mg, 20 mg, 100 mg, 140 mg, 180 mg o 250 mg de temozolomida, y como polvo de 2,5 mg/ml para solución para infusión, para la administración mediante infusión intravenosa.

- 5 En algunas realizaciones, la administración de TMZ según la presente invención se lleva a cabo según protocolos de tratamiento conocidos.
- 10 En algunas realizaciones, la terapia de combinación descrita en la presente memoria emplea el uso de dosis de TMZ que son más bajas que las comúnmente usadas o aprobadas para la terapia humana. En algunas realizaciones, la terapia de combinación descrita en la presente memoria emplea el uso de dosis de TMZ que son al menos 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % más bajas que las comúnmente usadas o aprobadas para su uso para la terapia humana. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 15 En algunas realizaciones, el sujeto que recibe el tratamiento según la presente invención también recibe radioterapia concomitante. En algunas realizaciones, los usos según la presente invención comprenden además la administración de radioterapia. La radioterapia se administra típicamente en una serie de sesiones, durante un período de varias semanas. Por ejemplo, la radioterapia se puede administrar 3, 4, 5, 6 o 7 días a la semana, durante un período de cuatro, cinco, seis o siete semanas.
- 20 Conjugado peptídico
- 25 El conjugado peptídico de la presente invención se deriva del extremo N-terminal de PAR-1. Los receptores activados por proteasa (PAR) son una familia de cuatro receptores acoplados a proteínas G numerados de PAR-1 a PAR-4. Desde su descubrimiento a principios de la década de los años 90, PAR-1 ha sido encontrado en muchos tejidos, incluido el cerebro, donde se encuentra en varios tipos de células, incluidas neuronas, astrocitos y microglía. PAR-1 es activado, entre otros, por la proteasa trombina, que reconoce PAR-1 en una ubicación específica dentro del extremo N-terminal de PAR-1 y escinde una porción del ectodominio de PAR-1.
- 30 Se encontró que PAR-1 es altamente expresado por las células de glioma y desempeña un papel en la proliferación y supervivencia de los gliomas. Los inventores de la presente invención han demostrado previamente que el bloqueo de PAR-1 por parte de antagonistas específicos provoca una disminución significativa en la proliferación de gliomas. Además, los inventores de la presente invención han diseñado conjugados peptídicos derivados de la secuencia del extremo N-terminal de PAR-1, que es reconocido por la trombina, como un señuelo para la trombina, para evitar su unión a, y la posterior escisión y activación de, PAR-1 (véase el documento WO 2015/173802). Los inventores de la presente invención han demostrado que los conjugados peptídicos inhiben la actividad de la trombina, inhiben la proliferación de células de glioma, inducen una reducción en los tumores de glioblastoma multiforme (GBM) in vivo y reducen la formación de edemas asociados con GBM. Ventajosamente, se encontró que los conjugados peptídicos ejercen las actividades mencionadas anteriormente a concentraciones particularmente bajas, dentro del intervalo de nanomolares in vitro y micromolares in vivo. La actividad de los conjugados peptídicos se realiza sin afectar negativamente la coagulación de la sangre (véase el documento WO 2015/173802). Sin estar ligados a ninguna teoría particular de un mecanismo de acción, se contempla que los conjugados peptídicos reducen la activación de PAR-1 y, en consecuencia, reducen la proliferación de células de glioma que expresan PAR-1.
- 40
- 45 El conjugado peptídico utilizado en la presente invención comprende un resto protector de alfa-amino, una secuencia de aminoácidos derivada del extremo N-terminal de PAR-1 y un resto incapacitante de proteasa.

En particular, un conjugado peptídico para su uso según la presente invención tiene la siguiente fórmula general:

- 50 resto protector de alfa-amino - péptido de PAR-1 - resto incapacitante de proteasa,
- en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17.
- 55 En algunas realizaciones, un conjugado peptídico para su uso según la presente invención comprende:
- un resto protector de alfa-amino,
- un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17, y
- 60 un resto incapacitante de proteasa,
- en donde el péptido se une al resto protector de alfa-amino y al resto incapacitante de proteasa, en donde el resto incapacitante de proteasa es clorometilcetona o derivados de la misma y en donde el resto protector de alfa-amino es tosilo o derivados del mismo.

En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es Asp-Pro-Arg. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 1. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 2. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 3. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 4. En algunas 5 realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 5. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 6. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 7. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 8. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 9. En algunas 10 realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 10. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 11. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 12. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 13. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 14. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 15. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 16. En algunas realizaciones, el péptido de PAR-1 es el péptido establecido como la Id. de sec. n.º: 17. 15

Secuencias de aminoácidos de restos peptídicos

Id. de sec.	Secuencia de aminoácidos
-	DPR
Id. de sec. n.º: 1	LDPR
Id. de sec. n.º: 2	TLDPR
Id. de sec. n.º: 3	ATLDPR
Id. de sec. n.º: 4	NATLDPR
Id. de sec. n.º: 5	TNATLDPR
Id. de sec. n.º: 6	ATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 7	KATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 8	SKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 9	ESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 10	PESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 11	RPESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 12	RRPESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 13	ARRPESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 14	RARRPESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 15	TRARRPESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 16	RTRARRPESKATNATLDPR
Id. de sec. n.º: 17	ARTRARRPESKATNATLDPR

20 La secuencia Asp-Pro-Arg corresponde a los aminoácidos 39-41 del PAR-1 humano (número de acceso NP_001983.2). La Id. de sec. n.º: 1 corresponde a los aminoácidos 38-41 del PAR-1 humano. Por consiguiente, las Id. de sec. n.º: 2-17 corresponden a los aminoácidos 37-41, 36-41, 35-41 y así sucesivamente hasta los aminoácidos 22-41 del PAR-1 humano.

25 En algunas realizaciones particulares, el péptido de PAR-1 es ATLDPR (Id. de sec. n.º: 3). En realizaciones adicionales, el péptido de PAR-1 comprende ATLDPR (Id. de sec. n.º: 3).

30 En algunas realizaciones particulares, un conjugado peptídico para su uso según la presente invención tiene la siguiente fórmula general:

resto protector de alfa-amino - ATLDPR - resto incapacitante de proteasa.

35 El término "resto protector de alfa-amino" se refiere a cualquier resto unido al amino terminal del péptido y que es capaz de proteger el conjugado peptídico de efectos adversos tales como proteólisis, degradación o aclaramiento, o aliviar dichos efectos adversos.

En algunas realizaciones, el resto protector de alfa-amino es tosilo ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2-$) (un grupo tosilo) o derivados del mismo.

5 Los restos protectores de alfa-amino adicionales que pueden usarse incluyen t-butiloxicarbonilo (BOC, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}-$), t-BOC), t-amiloxicarbonilo, adamantoxicarbonilo, y p-metoxibenciloxicarbonilo, 9-fluorenilmethoxicarbonilo (FMOC), 2-clorobenciloxicarbonilo, nitro, benciloxicarbonilo (CBZ), 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo, 2,3,6-trimetil-4-metoxifenilsulfonilo, bencilo de t-butilo (BZL) o BZL sustituido, tal como, p-metoxibencilo, p-nitrobencilo, p-clorobencilo, o-clorobencilo, y 2,6-diclorobencilo, t-butilo, ciclohexilo, ciclopentilo, benciloximetilo (BOM), tetrahidropiranilo, trítilo, clorobencilo, 4-bromobencilo, y 2,6-diclorobencilo. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

10 El término “resto incapacitante de proteasa” se refiere a cualquier resto capaz de unirse a una proteasa e incapacitarla transitoriamente o permanentemente para su actividad proteolítica. En particular, el resto incapacitante de proteasa de los conjugados peptídicos de la presente invención es un resto incapacitante de trombina. En algunas realizaciones, el resto incapacitante de proteasa es un inhibidor de trombina.

15 En algunas realizaciones particulares, el resto incapacitante de proteasa es clorometilcetona (-COCH₂Cl) (CMK) o un derivado de la misma.

20 Los restos adicionales incapacitantes de proteasa que pueden usarse incluyen: inhibidores irreversibles tales como acetilo sustituido (1-x-actil), fluoruros de sulfonilo (-SO₂F), ésteres (-COOR) y ácidos borónicos (-B(OR)₂); inhibidores reversibles tales como aldehídos (-CHO), arilcetonas (-CO-arilo), trifluorometilcetonas (-COCF₃) y ácidos cetocarboxílicos (-COCOOH).

25 En algunas realizaciones, el resto incapacitante de proteasa puede ser un acetilo sustituido.

En algunas realizaciones, el acetilo sustituido puede ser haloacetilo. En algunas realizaciones, el haloacetilo puede ser cloroacetilo. En algunas realizaciones, el resto incapacitante de proteasa puede ser clorometilcetona (CMK).

30 En algunas realizaciones, el resto protector de alfa-amino es tosilo o un derivado del mismo. En algunas realizaciones, el resto incapacitante de proteasa es clorometilcetona (CMK) o un derivado de la misma.

En algunas realizaciones particulares, el conjugado peptídico para su uso según la presente invención es: Tosilo-ATLDPR-CMK.

35 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico tiene la fórmula general:

resto protector de alfa-amino - péptido de PAR-1 - resto incapacitante de proteasa,

40 en donde:

el resto protector de alfa-amino es tosilo o un derivado del mismo;

el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17; y

45 el resto incapacitante de proteasa es CMK o un derivado del mismo.

En algunas realizaciones, el conjugado peptídico tiene una estructura según la siguiente fórmula:

50 Tosilo - péptido de PAR-1 - CMK,

en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17.

55 En algunas realizaciones particulares, el conjugado peptídico es Tosilo-ATLDPR-CMK. El aminoácido C-terminal del péptido de PAR-1 puede unirse covalentemente al resto incapacitante de proteasa directamente o a través de un enlazador, a través de su grupo carboxilo C-terminal, o a través de su cadena lateral. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

60 El término “enlazador” como se usa en la presente memoria se refiere a una molécula unida tanto al resto incapacitante de proteasa como al péptido de PAR-1. Los enlazadores pueden ser restos de aminoácidos, restos peptídicos, restos de nucleótidos, restos de oligonucleótidos, etc. Los enlazadores que se contemplan también pueden servir para un propósito terapéutico adicional, por ejemplo, pueden ser fluorescentes, permitiendo así la detección de los conjugados peptídicos que los llevan, o pueden ser un resto de polietilenglicol (PEG), protegiendo adicionalmente los conjugados peptídicos que los llevan de la degradación.

65

Variantes o análogos de las secuencias peptídicas están comprendidos en la presente invención. Una variante/análogo según la presente invención conserva al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % o al menos el 95 % de la actividad biológica de la secuencia a partir de la cual se derivó, o a la que es más similar.

- 5 Una variante como se usa en la presente memoria comprende un resto peptídico que tiene al menos un 80 % de identidad de secuencia con el péptido Asp-Pro-Arg o cualquiera de los péptidos establecidos en la Id. de sec. n.º: 1 a la Id. de sec. n.º: 17, por ejemplo, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 97 %, al menos el 99 % de identidad de secuencia con el péptido Asp-Pro-Arg o uno cualquiera de los péptidos establecidos en la Id. de sec. n.º: 1 a la Id. de sec. n.º: 17. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 10 En algunas realizaciones, dichas variantes pueden comprender sustituciones conservativas en relación con la secuencia de aminoácidos del resto peptídico correspondiente a las mismas.

Los ejemplos de sustituciones conservativas como se consideran en la presente invención son la sustitución de cualquier aminoácido de carga positiva (Arg, His, Lys) con cualquier otro aminoácido de carga positiva; la sustitución de cualquier aminoácido de carga negativa (Asp, Glu) con cualquier otro aminoácido de carga negativa; la sustitución de cualquier aminoácido polar sin carga (Ser, Thr, Asn, Gln) con cualquier otro aminoácido polar sin carga; o la sustitución de cualquier aminoácido hidrófobo (Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Trp, Tyr, Val) con cualquier otro aminoácido hidrófobo.

- 20 Las posiciones de residuo, que no son idénticas, también pueden estar compuestas por análogos peptídicos, que incluyen, por ejemplo, aminoácidos no naturales o derivados de los mismos. Típicamente, los análogos difieren de los péptidos naturales en una, dos o unas cuantas posiciones. Los análogos pueden incluir aminoácidos no naturales o modificaciones de aminoácidos del extremo N- o C-terminal en una, dos o unas cuantas posiciones. Ejemplos de aminoácidos no naturales, sin limitarse a ellos, son D-aminoácidos, aminoácidos alfa, aminoácidos alfa-disustituidos, 25 N-alquilaminoácidos, ácido láctico, 4-hidroxiprolina, Y-carboxiglutamato, épsilon-N,N,N-trimetillisina, épsilon-N-acetillisina, O-fosfoserina, N-acetilserina, N-formilmetionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, omega-N-metilarginina y ácido isoaspártico.

- 30 Un conjugado peptídico usado según la presente invención puede administrarse sistémicamente, por ejemplo, mediante administración intravenosa (IV) o administración subcutánea (SC). Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención. En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra sistémicamente en conjugación con radioterapia. La radioterapia puede facilitar la penetración del conjugado peptídico a través de la barrera hematoencefálica (BBB).

- 35 Un conjugado peptídico usado según la presente invención también puede administrarse por vía intracranial. Un conjugado peptídico según la presente invención también puede administrarse en el sistema nervioso central (SNC) del sujeto mediante administración intracerebroventricular (ICV). Por ejemplo, el conjugado peptídico puede administrarse mediante un catéter intraventricular unido a un depósito, tal como un depósito Ommaya.

- 40 El depósito puede cargarse con una composición que comprende el conjugado peptídico, y la composición fluye a través del catéter hasta que el depósito se vacía, por ejemplo, durante un período de varios días a varias semanas, tal como durante 7 días, 10 días o dos semanas. Después de que el depósito se vacía, se puede volver a cargar para una sesión o sesiones de tratamiento adicionales, según la condición del sujeto y consideraciones adicionales, como así lo determine un médico clínico.

- 45 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra directamente en el tumor. En otras realizaciones, el conjugado peptídico se administra en un área de la cual se ha resecado quirúrgicamente el tumor o una porción del mismo. En realizaciones adicionales, el conjugado peptídico se administra en un área alrededor del tumor.

- 50 Para la administración sistémica del péptido, el péptido se puede administrar desde una vez al día hasta una vez por semana durante un período de tiempo predeterminado.

- En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra según la presente invención concomitantemente con la administración de TMZ, es decir, el conjugado peptídico se administra durante el curso del tratamiento con TMZ. 55 Por ejemplo, el sujeto que se tratará puede recibir el conjugado peptídico a través de inyecciones ICV a intervalos periódicos durante el curso del tratamiento con TMZ. Como otro ejemplo, el sujeto puede recibir tanto el conjugado peptídico como la TMZ sistémicamente durante un período de tiempo predeterminado. Para la administración sistémica, el péptido puede administrarse por vía intravenosa o subcutánea y la TMZ puede administrarse por vía oral o mediante infusiones intravenosas. Opcionalmente, el sujeto también puede recibir radioterapia durante el tratamiento con el conjugado peptídico y TMZ. El conjugado peptídico, la TMZ o ambos pueden administrarse en ciclos de tratamiento durante un cierto período de tiempo, por ejemplo 1-12 meses, en donde cada ciclo de tratamiento comprende la administración concomitante del conjugado peptídico y temozolomida durante un período de tiempo predeterminado seguido de un período de tiempo en el que no se administran el conjugado peptídico y/o la temozolomida.

En realizaciones adicionales, la administración del conjugado peptídico continúa después del tratamiento con TMZ. En otras realizaciones, la administración del conjugado peptídico se detiene antes de que cese el tratamiento con TMZ.

5 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico y TMZ se administran concomitantemente. En otras realizaciones, el conjugado peptídico y TMZ se administran secuencialmente.

10 En algunas realizaciones, el conjugado peptídico se administra mediante administración ICV y la TMZ se administra por vía oral. En otras realizaciones, el conjugado peptídico se administra mediante administración ICV y la TMZ se administra mediante infusión intravenosa.

Una composición farmacéutica que comprende el conjugado peptídico típicamente comprende un portador farmacéuticamente aceptable, tal como agua/solución acuosa.

15 Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar de una manera más completa ciertas realizaciones de la invención. Sin embargo, de ningún modo deben interpretarse como limitantes del amplio alcance de la invención. Un experto en la técnica puede idear fácilmente muchas variaciones y modificaciones de los principios descritos en la presente memoria sin apartarse del alcance de la invención.

20 **Ejemplos**

Ejemplo 1 - Inhibición de la proliferación de células de glioma

25 El siguiente experimento probó el efecto del fármaco quimioterapéutico temozolomida ("TMZ") en combinación con el conjugado peptídico Tosilo-ATLDPR-clorometilcetona en la proliferación de células de glioma. El conjugado peptídico contiene 6 aminoácidos del extremo N-terminal de PAR-1: ATLDPR (Id. de sec. n.º: 3), y se denomina en la presente memoria "SIXAC".

30 En particular, la línea celular de glioma CNS-1 (rata) se trató con TMZ (500 µM), SIXAC (10 µM) o una combinación de TMZ (500 µM) y SIXAC (10 µM) durante 72 horas. La proliferación se midió por medio de XTT en comparación con las células no tratadas (control). Los resultados se muestran en la **Figura 1**.

35 Como se puede ver en la figura, se obtuvo una reducción prominente de la proliferación celular mediante la combinación de TMZ y SIXAC en comparación con las células no tratadas de control. La reducción fue significativamente mejor que la reducción obtenida con SIXAC solo. La TMZ sola no tuvo un efecto significativo sobre la proliferación de las células CNS-1 (*≤0,05, **≤0,01, ***≤0,001, ****≤0,0001).

40 Los resultados muestran que se puede lograr un efecto inhibidor importante sobre la proliferación de células de glioma con una combinación de TMZ y SIXAC, a concentraciones en las que cada tratamiento solo es ineficaz o produce solo un efecto menor.

Ejemplo 2 - Efecto sobre la supervivencia en un modelo animal de GBM

45 Se inyectaron células CNS-1 (5×10^7 células) usando métodos estereotácticos en la corteza parietal de ratas (n = 20, 16 ratas sobrevivieron a la cirugía).

50 Cinco días después (día 5) los cerebros de las ratas que sobrevivieron a la cirugía se examinaron mediante IRM y los tumores se puntuaron en una escala de 1-3. Para cada rata, se colocó un catéter en el tumor cerebral y se unió a una bomba osmótica (Alzet®) que liberaba uno de los siguientes tratamientos (0,5 µl/h, durante 14 días): TMZ 2 mg/rata (n = 7), o TMZ 2 mg/rata y SIXAC 6,9 µg/rata (20 µg/kg/día) (n = 7) (TMZ se disolvió en solución salina y tampón de acetato 0,1 M, pH 5) (relación 50:50 v/v).

55 Los grupos se monitorizaron diariamente para determinar la supervivencia hasta el día 25. Los resultados se resumen en las **Figuras 2A+B**.

60 La **Figura 2A** muestra el porcentaje de supervivencia en cada grupo durante todo el período de estudio. Como se puede observar en la figura, la supervivencia en el grupo que recibió el tratamiento combinado de TMZ y SIXAC aumentó significativamente en comparación con la supervivencia en el grupo que recibió TMZ solo (prueba de rango logarítmico (Mantel-Cox) P = 0,0204; prueba de Gehan-Breslow-Wilcoxon P = 0,0277), con una rata que sobrevivió más allá del período de estudio (esta rata se sacrificó después de 18 semanas [=en el día 126]). La mediana de supervivencia fue de 18,5 días en el grupo de tratamiento combinado frente a los 14 días en el grupo de tratamiento con TMZ.

65 La **Figura 2B** muestra la supervivencia de las ratas en cada grupo, según el grado inicial del tumor (según lo determinado por el barrido de IRM el día 1, antes de cualquier tratamiento). Como se puede observar en la figura, en ambos grupos, las ratas con tumores de menor grado sobrevivieron mejor que las ratas con tumores de mayor grado.

Las ratas en el grupo de tratamiento combinado mostraron una mejor supervivencia para todas las grados en comparación con las ratas que recibieron TMZ sola.

5 Para concluir, los resultados muestran que se puede lograr una mejora significativa en la supervivencia con una combinación de TMZ y SIXAC en un modelo animal de GBM, incluso para tumores de alto grado.

Ejemplo 3 - Efecto de SIXAC y TMZ sobre la ruta de PAR-1 en células de glioma

10 El siguiente experimento examinó un posible mecanismo subyacente a la sinergia observada entre SIXAC y TMZ. Más particularmente, se examinó la expresión de dos proteínas, PAR-1 y quinasa regulada por señal extracelular fosforilada (pERK), en células de glioma incubadas con TMZ, SIXAC o una combinación de TMZ+SIXAC.

Métodos

15 Cultivo celular

Células de glioma de rata CNS-1 se cultivaron en el medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Bet Haemek, Biological Industries, Israel) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (Bet Haemek, Biological Industries, Israel) y penicilina y estreptomicina al 1 % en una atmósfera humidificada con CO₂ al 5 %.

20 Análisis de transferencia Western

25 Se sembraron células CNS-1, y se incubaron durante 24 h. Después, el medio se reemplazó por un medio libre de FCS durante 24 h adicionales. A continuación, las células se trataron durante 24 h con SIXAC (10 µM), TMZ (500 µM), una combinación de TMZ (500 µM) y SIXAC (10 µM) o un medio libre de FCS (que contenía DMSO al 0,2 %) que se usó como un control (n = 4 para cada grupo de tratamiento). A continuación, las células se lavaron con PBS enfriado con hielo y se lisaron en tampón RIPA (que contenía en mM: 50 de TRIS HCl pH 8, 150 de NaCl, NP-40 al 1 %, desoxicolato de sodio al 0,5 % y SDS al 0,1 %), un cóctel de inhibidor de proteasa (Merck Millipore 539134, 1: 100), ortovanadato de sodio 0,1 mM y PMSF 2 mM. Las células se rasparon, se recogieron y se centrifugaron (16.000 g x 20 min) a 4 °C. Se recogieron los sobrenadantes, y la concentración de proteínas se determinó mediante un ensayo de ácido bicinchonírico (BCA). Cada muestra (20 µg) se separó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS. Las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa. Las membranas se incubaron con anticuerpo de ratón anticinasa regulada por señal extracelular fosforilada (pERK) (1: 10.000, M8159, Sigma) o anticuerpo de conejo anti-PAR-1 (1:50 0, abcam 32611) durante 1,5 h a temperatura ambiente (RT) y se lavaron con una solución salina tamponada con TRIS y Tween 20 al 0,1 % (TBST). Las membranas se incubaron a temperatura ambiente con anticuerpo de cabra antirratón o conejo conjugado con peroxidasa de rábano picante (1: 10.000, Jackson ImmunoResearch Laboratories). Las bandas de proteínas se detectaron mediante un método de quimioluminiscencia mejorada (ECL) basado en peroxidasa. El análisis de la densidad de la banda de proteínas se realizó con el software ImageJ.

40 Resultados

45 Los resultados se resumen en las **Figuras 3A-B**. El tratamiento con TMZ durante 24 horas provocó un aumento significativo en la expresión de PAR1 y pERK en células de glioma de rata CNS1. Este aumento se evitó cuando TMZ se aplicó junto con SIXAC. SIXAC por sí solo no provocó ningún cambio significativo en los niveles de PAR1 ni pERK ($\leq 0,05$, $\leq 0,01$). Sin desear estar ligado a ninguna teoría particular de un mecanismo de acción, este aumento en los niveles de PAR-1 y pERK puede indicar que TMZ provoca un cierto proceso de retroalimentación que implica la inducción de la vía de PAR-1, lo que hace que las células sean más sensibles al efecto inhibidor de SIXAC en comparación con su sensibilidad cuando SIXAC se administra solo.

50 Ejemplo 4 - Efecto de SIXAC y TMZ sobre la migración de células de glioma

Métodos

55 Cultivo celular

60 Se cultivaron células de glioma de rata C6 en un medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Bet Haemek, Biological Industries, Israel) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (Bet Haemek, Biological Industries, Israel) y penicilina y estreptomicina al 1 % en una atmósfera humidificada con CO₂ al 5 %.

65 Ensayo de raspado (cicatrización de heridas)

66 El efecto de TMZ y SIXAC sobre el movimiento coordinado de las células de glioma de C6 se evaluó usando un ensayo de cicatrización de heridas. Las células se sembraron en placas de 24 pocillos a una densidad de 5 x 10⁴ células/pocillo. Las células se cultivaron en un medio libre de FCS durante 24 h. Se estableció una herida mediante raspado usando una punta de pipeta de 10 µl. Las células se lavaron dos veces con PBS caliente y, a continuación,

se añadió el medio libre de FCS fresco, que contenía SIXAC (1 μ M), TMZ (100 μ M) o una combinación de SIXAC y TMZ. Los pocillos con el medio libre de FCS solo o medio libre de FCS + DMSO al 0,2 % se usaron como controles (marcados como “control” y “control+DMSO”). La adquisición de imágenes del cierre del hueco de la herida (%) se llevó a cabo después de 4 h de incubación usando un microscopio Nikon Eclipse. Las imágenes se analizaron mediante el software Fiji.

5 **Resultados**

10 Los resultados se resumen en las **Figuras 4A-B**. Se encontró que SIXAC, pero no TMZ disminuyó significativamente el porcentaje de cierre de heridas. Una combinación de SIXAC y TMZ fue particularmente eficaz y redujo el porcentaje de cierre de la herida incluso más, significativamente más que SIXAC solo. Los resultados indican una inhibición

15 sinérgica eficaz de la migración celular por efecto de la combinación.

20 La descripción anterior de las realizaciones específicas revelará así completamente la naturaleza general de la invención, que otros podrán, aplicando el conocimiento actual, modificar y/o adaptar fácilmente para diversas aplicaciones dichas realizaciones específicas sin experimentación indebida y sin apartarse del concepto genérico, y por lo tanto, dichas adaptaciones y modificaciones deben y están destinadas a entenderse dentro del significado y rango de equivalentes de las realizaciones descritas. Debe entenderse que la fraseología o terminología empleada en la presente memoria tiene el propósito de descripción y no de limitación. Los medios, materiales y etapas para llevar a cabo las diversas estructuras y funciones químicas descritas pueden tomar una variedad de formas alternativas sin apartarse de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un conjugado peptídico que tiene la siguiente fórmula general:
 - 5 un resto protector de α -amino - péptido de PAR-1 - resto incapacitante de proteasa, en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-17, para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto en combinación con temozolomida.
- 10 2. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1, en donde el glioma maligno es glioblastoma.
- 15 3. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
 - 15 en donde el péptido de PAR-1 se selecciona del grupo que consiste en Asp-Pro-Arg e Id. de sec. n.º: 1-4; o en donde el péptido de PAR-1 es Ala-Thr-Leu- Asp-Pro- Arg (Id. de sec. n.º: 3).
- 20 4. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1, en donde el resto protector de α -amino es tosilo o un derivado del mismo.
- 25 5. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1, en donde el resto incapacitante de proteasa es clorometilcetona o un derivado de la misma
- 30 6. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1, en donde el conjugado peptídico es: tosilo-Ala-Thr-Leu-Asp-Pro-Arg-clorometilcetona.
- 35 7. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
 - 35 para la administración en el sistema nervioso central (SNC); o para la administración intracerebroventricular (ICV).
- 40 8. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
 - 40 para la administración sistémica; o para la administración intravenosa o subcutánea.
- 45 9. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 8, para administración diaria o semanal.
- 50 10. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
 - 50 en donde la temozolomida está en una forma farmacéutica de dosificación oral; o en donde la temozolomida está en la forma de cápsulas para uso oral; o en donde la temozolomida está en una forma adecuada para la infusión intravenosa.
- 55 11. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1, para su uso en combinación con radioterapia.
- 60 12. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
 - 60 en donde el péptido conjugado y la temozolomida son para su uso en el mismo día; o en donde el péptido conjugado y la temozolomida son para su uso en días separados.
- 65 13. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
 - 65 en donde el conjugado peptídico y la temozolomida se usan concomitantemente en una pluralidad de ciclos de tratamiento durante un período de tiempo de 1-12 meses, en donde cada ciclo de tratamiento comprende el uso concomitante del conjugado peptídico y la temozolomida durante un período de tiempo predeterminado seguido de un período de tiempo en el que no se usa el conjugado peptídico y la temozolomida; o

en donde la temozolomida se usa en ciclos de tratamiento, cada uno de los cuales comprende un período de tiempo predeterminado en el que se usa la temozolomida seguido de un período de tiempo en el que no se usa la temozolomida, y el conjugado peptídico se usa continuamente.

- 5 14. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
- en donde el conjugado peptídico es para administración intratumoral o
en donde el conjugado peptídico es para la administración en un área de la cual se ha resecado el
10 tumor o una porción del mismo.
15. La composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un glioma maligno en un sujeto según la reivindicación 1,
en donde el conjugado peptídico es para la administración en el área alrededor de un tumor.

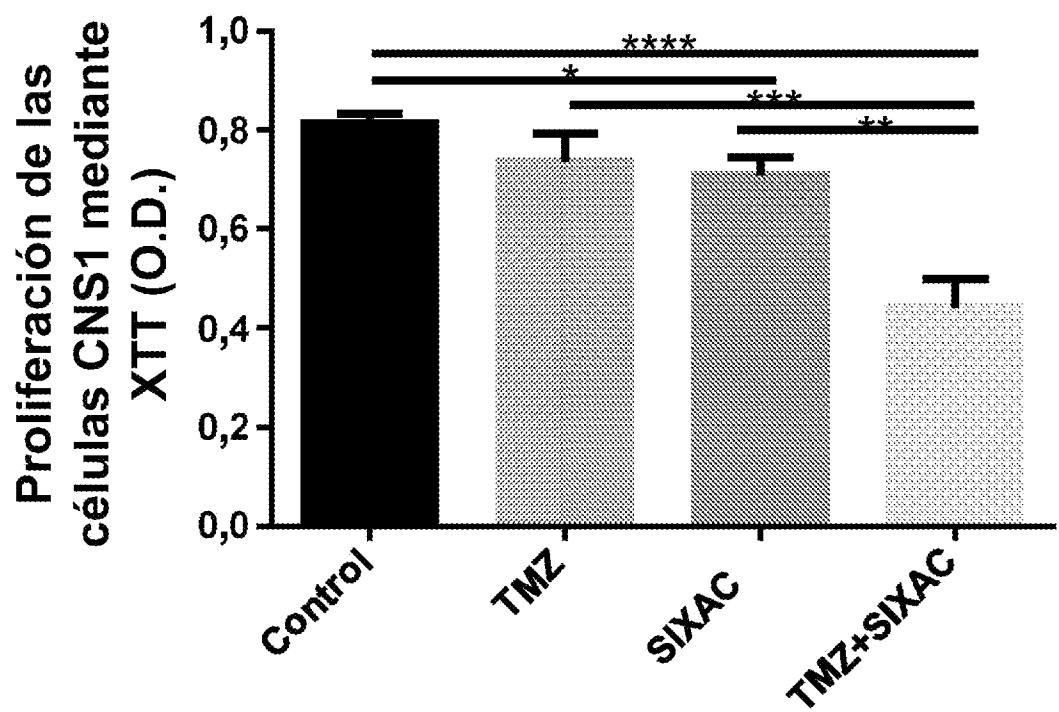


Figura 1

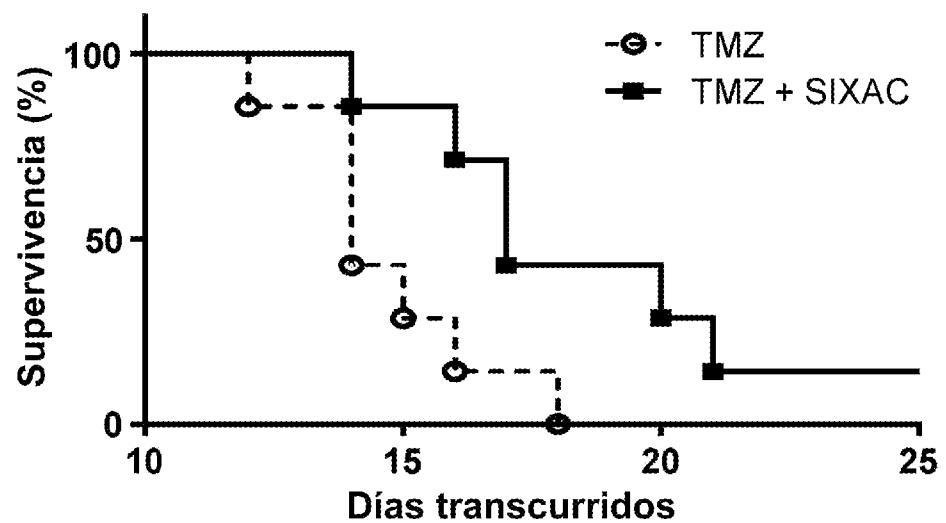


Figura 2A

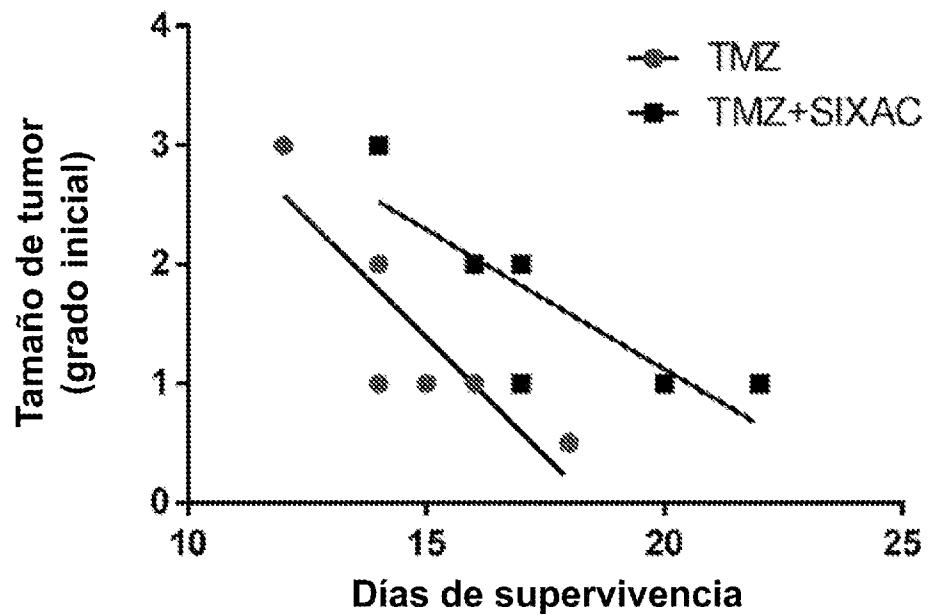


Figura 2B

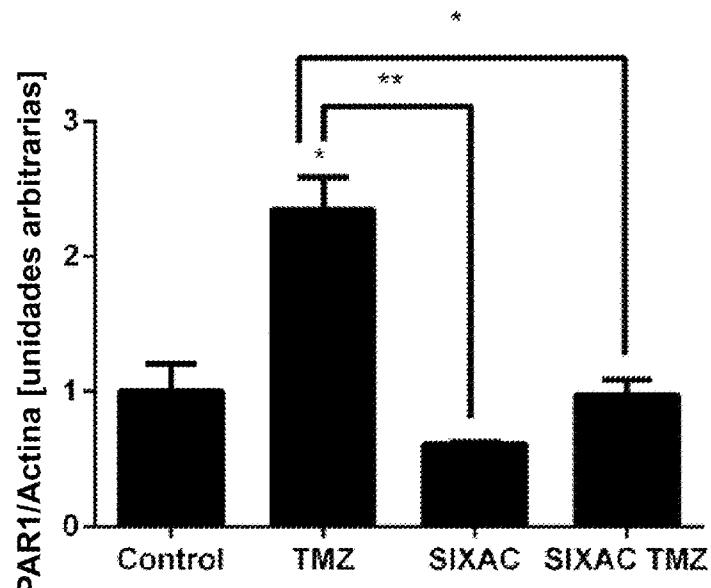


Figura 3A

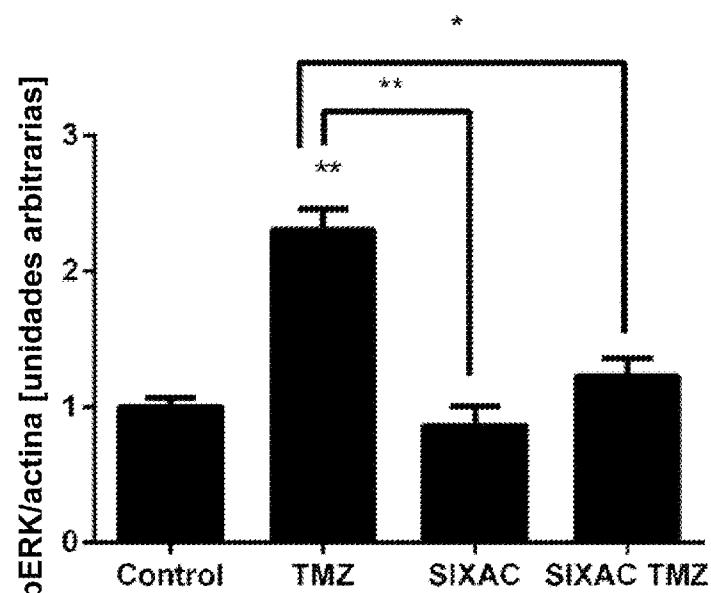


Figura 3B

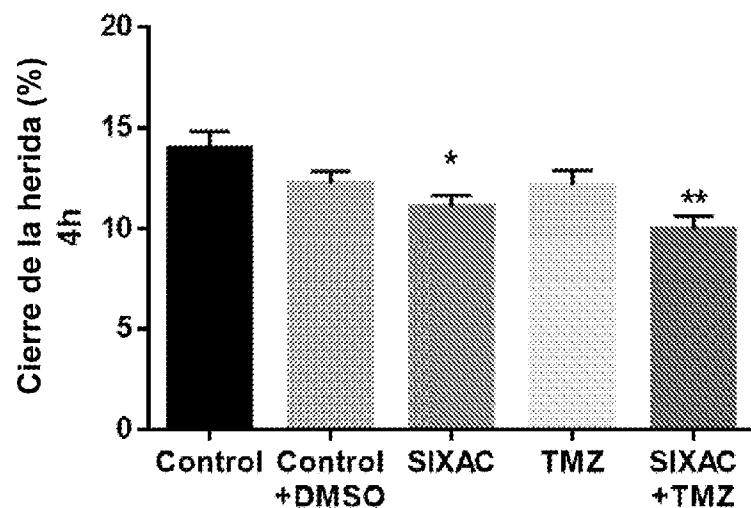


Figura 4A

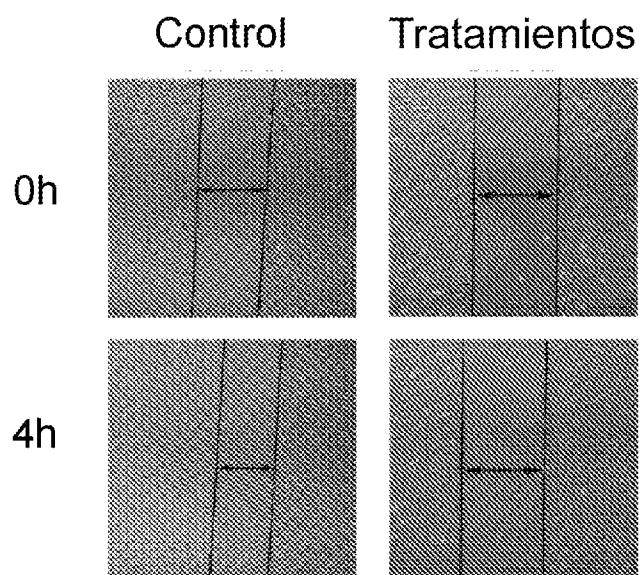


Figura 4B