



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 705**

51 Int. Cl.:
C07K 14/605 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08103786 .3**
96 Fecha de presentación : **27.02.1997**
97 Número de publicación de la solicitud: **1975177**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.10.2008**

54 Título: **Péptido supresor del apetito, su composición y uso.**

30 Prioridad: **01.03.1996 DK 230/96**
01.03.1996 DK 231/96

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.09.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.09.2011

73 Titular/es: **NOVO NORDISK A/S**
Novo Allé
2880 Bagsvaerd, DK

72 Inventor/es: **Thim, Lars;**
Wulff, Birgitte;
Judge, Martin;
Madsen, Ole y
Holst, Jens

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 364 705 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

Péptido supresor del apetito, su composición y uso.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende un péptido GLP-2.

Antecedentes de la invención

10

El glucagón es producido por la célula A pancreática y se libera en respuesta a niveles bajos de glucosa en la sangre. Su lugar de acción principal es el hígado, donde estimula la producción de glucosa. Por tanto, es la hormona principal que contrarresta la insulina en la homeostasis de la glucosa sanguínea (Unger, R. H. y L. Orci (1990). Glucagon, en: Diabetes Mellitus 4ª ed. New York, Elsevier. pp 104-120).

15

El glucagón se procesa a partir de un precursor más grande por proteólisis limitada. La clonación molecular del gen de glucagón reveló que el precursor de proglucagón contenía no sólo glucagón sino también dos péptidos de tipo glucagón adicionales llamados GLP-1 y GLP-2. El GLP-1 y GLP-2 están codificados por exones separados, lo que sugiere actividades biológicas diferentes. Más tarde se demostró que el precursor de proglucagón era sometido a procesos diferenciales en los tres tejidos diferentes conocidos por producir proglucagón: la célula A pancreática, la célula L intestinal y en el sistema nervioso central (SNC). El glucagón es así selectivamente separado del precursor en el islote de la célula A, mientras que el GLP-1 y el GLP-2 son selectivamente liberados de la célula L intestinal y el SNC. [publicado en (Unger, R.H. y L. Orci (1990). Glucagon, en: Diabetes Mellitus 4ª ed. New York, Elsevier. pp 104-120)].

20

Se han identificado receptores específicos de GLP-1 (Thorens, B. (1992) Proc. Natl. Acad. USA 89: 86418645) los cuales son claramente diferentes del receptor de glucagón (L. J. Jehnek, et al. (1993) Science 259: 16141616) y tienen distribuciones de tejido diferentes (R. V Campos, et al. (1994) Endocrinology 134: 2156-2164). El GLP-1 se libera de la célula L después de una comida y funciona como una hormona incretina (es decir, potencia la liberación de insulina inducida por la glucosa de la célula B pancreática). El receptor de GLP-1 se expresa de esta manera a niveles elevados en la superficie de las células B del islote (K. Moens, et al. (1996) Diabetes 45: 257-261).

25

30

Se ha demostrado la inducción a la proliferación epitelial intestinal por el GLP-2 (Drucker, D. J. et al (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 7911-7916), y se ha descrito el tratamiento de enfermedades gastrointestinales por células cultivadas en un medio de GLP-2 (Drucker, DJ y Keneford, JR., WO 96/32414).

Hasta ahora no se había informado sobre ningún receptor de GLP-2.

35

Péptidos derivados del proglucagón y hábitos alimenticios

Previamente hemos informado sobre la derivación y el establecimiento de glucagonomas anorexigénicos transplantables (O. D. Madsen, et al. (1993) Endocrinology 133: 2022-2030) así como de insulinomas hipoglucémicos en ratas (O. D. Madsen, et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 6652-6656). Este tipo de tumores pueden derivarse a partir de un origen clónico común de células MSL pluripotentes (O.D. Madsen, et al. (1986) J. Cell Biol. 103: 20252034) y refleja un proceso de maduración hacia células A y células B de islotes, respectivamente (O.D. Madsen, et al. (1993) Endocrinology 133: 2022-2030).

40

45

La anorexia asociada al glucagonoma es muy grave: tiene una aparición aguda y conduce, tras pocos días, a una parada completa de la ingestión de alimentos. Esta gravedad de anorexia apenas puede compararse con otros tumores experimentales en roedores y sugiere la producción por parte del glucagonoma de un factor de saciedad muy potente que actúa mediante una vía periférica de administración. Previamente se ha demostrado que los glucagonomas anorexigénicos mostraban un proceso no fisiológico que daba como resultado la formación tanto de glucagón como de GLP-1 (O. D. Madsen, et al. (1993) Endocrinology 133: 2022-2030). Además, una variante del glucagonoma no anorexigénico fue incapaz de procesar el precursor (O.D. Madsen, et al. (1995) Scand. J. Clin. Lab. Invest. 55, supl 220: 27-36). También se menciona la pérdida de peso como componente del síndrome del glucagonoma en el hombre (J. J. Holst (1985) Glucagon-producing tumors, en: Hormone-producing tumors of the gastrointestinal tract New York, Churchill Livingstone. pp 57-84) aunque con un alto grado de variabilidad entre pacientes diferentes (S.J. Bhatena, et al. (1981). Glucagonoma and glucagonoma syndrome, en: Glucagon Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A-cells. New York, Elsevier. 413-438).

50

55

Glucagón

Se ha mostrado que el glucagón está implicado en la regulación de la cantidad de comida espontánea en ratas, pero el efecto global es mínimo y es ejercido por medio de conexiones vagales al hígado (N. Geary, et al. (1993) Am. J. Physiol. 264: R116-R122). Este efecto se observa sólo por infusión portal hepática de glucagón, mientras que la administración intraperitoneal de dosis farmacológicas no muestra ningún efecto sobre la ingestión de alimentos en ratas en ayunas (O.D. Madsen, et al. (1993) Endocrinology 133: 2022-2030).

60

65

GLP-1

Se ha informado recientemente sobre el papel central del GLP-1 en la regulación de la alimentación (M. D. Turton, et al. (1996) Nature 379: 69-72). La administración intracerebroventricular (ICY) de GLP-1 inhibió la alimentación de las ratas en ayunas. Nuevamente la administración periférica de GLP-1 no tuvo ningún efecto en los hábitos de alimentación (M.D. Turton, et al. (1996) Nature 379: 69-72; D. Madsen, et al. (1993) Endocrinology 133: 20222030), lo cual sugiere que puede que el GLP- 1 producido por un tumor no contribuya significativamente a la anorexia observada.

RESUMEN DE LA INVENCION

Se ha descubierto que el GLP-2 tiene un potente efecto en la inhibición de la ingestión de alimentos cuando se administra periféricamente.

Se ha propuesto que el GLP-2 normalmente liberado junto con el GLP-1 de la célula L intestinal desempeña su propio papel distintivo como factor de saciedad periférico.

En consecuencia, el uso de una composición farmacéutica se describe en la presente comprendiendo, junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, una fracción de HPLC de un extracto de tumor de glucagonoma preparado por extracción de ácido etanol, filtración en gel y HPLC preparatoria, dicha fracción estando mostrada como fracción G4H9 en la Fig. 2 y conteniendo el péptido tipo glucagón 2 (GLP-2) como un componente principal (es decir, más del 40%) o comprendiendo cualquier componente individual de dicha fracción o una combinación de dos o más de los componentes de dicha fracción.

Una composición farmacéutica que comprende péptido tipo glucagón 2 (GLP-2) o una variante u homólogo del mismo para la profilaxis o tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la regulación del apetito perjudicada está descrita en la presente.

Una composición farmacéutica que comprende un péptido con la siguiente secuencia de aminoácidos

$$X^1 H X^2 D G S F S D E M N T X^3 L D X^4 L A X^5 X^6 D F I N W L X^7 X^8 T K I T D X^9$$

donde X^1 es NH_2 , DFPEEVAIVEELGRR, DEPEEV TIVEELGRR, DFPEEVNIVEELRRR o un fragmento derivado,

X^2 es Ala o Gly,

X^3 es Ile o Val,

X^4 es Asn, Ser o His,

X^5 es Ala o Thr,

X^6 es Arg o Lys,

X^7 es Ile o Leu,

X^8 es Gln o His, o

X^9 es OH, Lys, Arg, Arg-Lys, Lys-Arg, Arg-Arg o Lys-Lys para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados con la mala regulación del apetito está descrita en la presente.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención se refiere a un péptido y su composición tal y como se define en las reivindicaciones.

En la presente descripción, el término "péptido" se entiende para incluir el péptido GLP-2 maduro o una forma precursora del mismo así como un fragmento funcional del mismo que esencialmente tenga la actividad del péptido en toda su longitud. Además, el término "péptido" se destina a incluir homólogos de dicho péptido. Tales homólogos comprenden una secuencia de aminoácidos que exhibe un grado de identidad de al menos 50%, tal como al menos 75%, y más particularmente al menos 90% de identidad con la secuencia de aminoácidos de GLP-2 humano. El grado de identidad se puede determinar por métodos convencionales, véase por ejemplo, Altshul et al., Bull. Math. Bio. 48: 603-616, 1986, y Henikoff y Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-10919, 1992.

Homólogos del péptido pueden tener una o más sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos. Estos cambios pueden ser de una naturaleza menor, es decir sustituciones de aminoácidos conservadores que no afectan significativamente al pliegue o actividad del péptido, deleciones pequeñas, típicamente de uno a aproximadamente cinco aminoácidos, pequeñas extensiones amino o carboxil-terminales, tal como un residuo de metionina aminoterminal, un pequeño péptido de enlace de hasta aproximadamente 15 residuos, o una pequeña extensión que facilita la purificación, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión. Véase en general Ford et al., Protein Expression and Purification 2: 95-107, 1991. Ejemplos de sustituciones conservadoras están dentro del grupo de aminoácidos básicos (tales como arginina, lisina, histidina), aminoácidos ácidos (tales como ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (tales como glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (tales como leucina, isoleucina, valina), aminoácidos aromáticos (tales como fenilalanina, triptófano, tirosina) y aminoácidos pequeños (tales como glicina, alanina, serina, treonina, metionina).

El homólogo puede ser una variante alélica, es decir una forma alternativa de un gen que surge a través de mutación, o un péptido alterado codificado por el gen mutado, pero teniendo sustancialmente la misma actividad que el péptido GLP-2 nativo. Por lo tanto las mutaciones pueden ser silenciosas (ningún cambio en el péptido codificado) o pueden codificar péptidos con la secuencia de aminoácidos alterada.

El homólogo del péptido puede también ser un homólogo de especies, es decir un péptido con una actividad similar derivado de otras especies. Ejemplos de homólogos de especies del péptido GLP-2 son GLP-2 humano, bovino, de rata, de hámster, de cobaya y porcino.

El péptido GLP-2 es uno en el que X¹ es NH₂, X² es Ala, X³ es Ile, X⁴ es Asn, X⁵ es Ala, X⁶ es Arg, X⁷ es Ile, X⁸ es Gla o es OH. En particular, el péptido tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

H A D G S F S D E M N T I L D N L A A R D F I N W L I Q T K I T D

(GLP-2 humano) o

H A D G S F S D E M N T I L D N L A T R D F I N W L I Q T K I T D

(GLP-2 de rata) o H A D G S F S D E M N T V L D N L A T R D F I N W L L H T K I T D

(GLP-2 porcino).

Un homólogo del péptido se puede aislar preparando una biblioteca de ADNc o genómica de una célula de las especies en cuestión, y seleccionando las secuencias de ADN que codifican para todo o parte del homólogo usando sondas de oligonucleótidos sintéticas conforme a técnicas estándar, por ejemplo como se describe por Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989, o por medios de reacción en cadena de polimerasa (PCR) usando cebadores específicos como se describe por Sambrook et al., *supra*.

La presente invención se refiere a una composición que comprende una variante del péptido GLP-2. La variante es una en la que Ala ha sido sustituida por Gly en la posición 2 del péptido maduro tal y como se define en la reivindicación 1. Se espera que esta variante muestre una vida media de plasma más larga que el péptido nativo, lo que es una ventaja debido a que la dosificación requerida para obtener una supresión del apetito adecuada o efecto de inducción de la saciedad será generalmente más pequeña. El péptido GLP-2 como se especifica arriba puede hacerse mediante técnicas de ADN recombinante según procedimientos bien establecidos en la técnica.

Más específicamente, una secuencia de ADN que codifique el péptido GLP-2 puede ser aislada o sintetizada basándose en la secuencia de ADN del preproglucagón humano publicada (véase J.W. White et al., Nucleic Acids Res. 14, 1986, pp. 4719-4730; G.I. Bell et al., Nature 304, 1983: pp. 368-371), por ejemplo obtenida preparando una biblioteca genómica o de ADNc de un tejido apropiado y seleccionando las secuencias de ADN que codifican todo o parte del péptido GLP-2 por hibridación usando sondas de oligonucleótido sintéticas según las técnicas estándares (véase Sambrook et al., *supra*). Para el presente objetivo, la secuencia de ADN que codifica el péptido GLP-2 es preferiblemente de origen humano.

El constructo de ADN que codifica el péptido GLP-2 puede también prepararse sintéticamente por los métodos estándares establecidos, p. ej. el método de la fosfoamidita descrito por Beaucage y Caruthers, Tetrahedron Letters 22 (1981), 1859-1869, o el método descrito por Matthes et al., EMBO Journal 3 (1984), 801-805. Según el método de la fosfoamidita, los oligonucleótidos son sintetizados, p. ej. en un sintetizador de ADN automático, purificados, anclados, ligados y clonados en vectores adecuados.

Además, el constructo de ADN puede ser de origen sintético y genómico mixto, sintético y ADNc mixto o genómico y ADNc mixto, preparado ligando fragmentos de origen sintético, genómico o de ADNc (según corresponda), los fragmentos correspondiendo a varias partes todo el constructo de ADN, según las técnicas estándares.

El constructo de ADN también puede prepararse por reacción en cadena de la polimerasa usando cebadores específicos, por ejemplo como se describe en US 4,683,202 o Saiki et al., Science 239 (1988), 487-491, o Sambrook et al., *supra*.

El constructo de ADN puede comprender la secuencia de ADN mostrada en la Figura 3 de G.I. Bell et al., Nature 304, 1983; pp. 368-371, así como las secuencias de ácido nucleico que codifican el GLP-2 humano, pero que difieren de la secuencia de ADN mostrada en la Figura 3 de Bell et al., *supra*, en virtud de la degeneración del código genético. El constructo de ADN además incluye secuencias de ácidos nucleicos que se hibridan a una molécula de ácido nucleico (bien genómica, sintética o ADNc o ARN) que codifica GLP-2 humano bajo las condiciones de alta astringencia (es decir, preremoción en 5X SSC y que se prehibridan durante 1 hr. a aproximadamente 40°C en una solución del 20% de formamida, 5X Solución de Denhardt, 50 mM de fosfato sódico, pH 6.8, y 50 µg de ADN del timo de ternero ultrasónico desnaturalizado, seguido de hibridación en la misma solución suplementada con 100 µM de ATP durante 18 hrs. a aproximadamente 40°C, seguido de un lavado en 0.4X SSC a una temperatura de aproximadamente 45°C). Éste podría, por ejemplo, ser secuencias de ADN que codifican GLP-2 de otras especies, por ejemplo GLP-2 de rata, bovino, de hámster, de cobaya o porcino.

Para expresar el GLP-2, el constructo de ADN que codifica el péptido GLP-2 se inserta en un vector recombinante apropiado. Éste puede ser cualquier vector que pueda ser convenientemente sometido a procedimientos de ADN recombinante y la elección del vector dependerá a menudo de la célula huésped en la cual tiene que introducirse. De esta manera, el vector puede ser un vector de replicación autónoma, es decir, un vector que existe como una entidad extracromosómica, cuya replicación es independiente de la replicación cromosómica, p. ej. un plásmido. De forma alternativa, el vector puede ser uno que, cuando se introduce en una célula huésped, se integra en el genoma de la célula huésped y se replica junto con el/los cromosoma(s) donde se ha integrado.

El vector es preferiblemente un vector de expresión en el que la secuencia de ADN que codifica el péptido GLP-2 está operativamente conectada a segmentos adicionales requeridos para la transcripción del ADN. En general, el vector de expresión se deriva del ADN viral o plásmido o puede contener elementos de ambos. El término "operativamente conectado" indica que los segmentos se colocan de modo que funcionen conjuntamente para sus objetivos destinados, p. ej. la transcripción se inicia en un promotor y sigue por la secuencia de ADN que codifica el péptido.

El promotor puede ser cualquier secuencia de ADN que muestre actividad transcripcional en la célula huésped de elección y puede derivarse de genes que codifiquen proteínas tanto homólogas como heterólogas a la célula huésped.

Ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción del ADN que codifica el péptido GLP-2 en células de mamíferos son el promotor SV40 (Subramani et al., Mol Cell Biol. 1(1981), 854-864), el promotor MT-1 (gen de la metalotioneína) (Palmiter et al., Science 222 (1983), 809-814) o el promotor tardío principal de adenovirus 2.

Un ejemplo de un promotor adecuado para el uso en células de insectos es el promotor polihedrina (US 4,745,051; Vasuvedan et al., FEBS Lett. 311, (1992)7-11), el promotor P10 (J.M. Vlak et al., J. Gen. Virology 69, 1988; pp. 765-776), el promotor de proteína básica del virus de la polihedrosis de *Autographa californica* (EP 397 485), el promotor temprano inmediato 1 del gen de baculovirus (US 5,155,037; US 5,162,222), o el promotor temprano-retardado del gen de baculovirus 39K (US 5,155,037; US 5,162,222).

Ejemplos de promotores adecuados para el uso en células huéspedes de la levadura incluyen promotores de genes glicolíticos de la levadura (Hitzeman et al., J Biol. Chem. 255 (1980), 12073-12080; Alber y Kawasaki, J. Mol. Appl. Gen. 1 (1982), 419-434) o genes de alcohol deshidrogenasa (Young et al., en Genetic Engineering of Microorganisms for Chemicals (Hollaender et al, eds.), Plenum Press, New York, 1982), o los promotores de TPI1 (US 4,599,311) o ADH2-4c (Russell et al., Nature 304 (1983), 652-654).

Ejemplos de promotores adecuados para el uso en células huéspedes de hongos filamentosos son, por ejemplo, el promotor ADH3 (McKnight et al., The EMBO J. 4(1985), 2093-2099) o el promotor tpiA. Ejemplos de otros promotores útiles son los derivados del gen que codifica amilasa TAKA de *A. oryzae*, proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*, α -amilasa neutra de *A. niger*, α -amilasa estable en ácido de *A. niger*, glucoamilasa (gluA) de *A. niger* o de *A. awamori*, lipasa de *Rhizomucor miehei*, proteasa alcalina de *A. oryzae*, triosa fosfato isomerasa de *A. oryzae* o acetamidasa de *A. nidulans*. Los preferidos son los promotores de amilasa-TAKA y gluA.

Ejemplos de promotores adecuados para el uso en células huésped bacterianas incluyen el promotor del gen de la amilasa maltogénica de *Bacillus stearothermophilus*, el gen de la alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis*, el gen de la amilasa BAN de *Bacillus amyloliquefaciens*, el gen de la proteasa alcalina de *Bacillus subtilis*, o el gen de la xilosidasa de *Bacillus pumilus*, o los promotores de fago Lambda P_R o P_L o los promotores lac, trp o tac de *E. coli*.

La secuencia de ADN que codifica el péptido GLP-2 puede también, si es necesario, ser operativamente conectada a un terminador adecuado, como el terminador de la hormona humana del crecimiento (Palmiter et al., op cit. o (para huéspedes fúngicos) los terminadores TPI1 (Alber and Kawasaki, op cit. o ADH3 (McKnight et al., op cit.) El vector puede adicionalmente comprender elementos como señales de poliadenilación (p. ej. de SV40 o de la región de adenovirus 5 Elb), secuencias intensificadoras transcripcionales (p. ej. el intensificador SV40) y secuencias intensificadoras traduccionales (p. ej. las que codifican los ARNs de adenovirus VA).

El vector recombinante puede adicionalmente comprender una secuencia de ADN que permita al vector replicarse en la célula huésped en cuestión. Un ejemplo de este tipo de secuencia (cuando la célula huésped es una célula de mamífero) es el origen de replicación SV40.

Cuando la célula huésped es una célula de levadura, algunas secuencias adecuadas que permiten al vector replicarse son los genes de replicación REP 1-3 del plásmido de levadura 2 μ y el origen de replicación.

El vector puede también comprender un marcador seleccionable, p. ej. un gen cuyo producto complemente un defecto en la célula huésped, como el gen que codifica la dihidrofolato reductasa (DHFR) o el gen TPI de *Schizosaccharomyces pombe* (descrito por P.R. Russell, Gene 40, 1985, pp. 125-130), o uno que confiera resistencia a un medicamento, p. ej. ampicilina, canamicina, tetraciclina, cloranfenicol, neomicina, higromicina o metotrexato. Para hongos filamentosos, los marcadores seleccionables incluyen amdS, pyrG, argB, niaD, sC.

Para dirigir el péptido GLP-2 dentro del conducto secretor de las células huésped, una secuencia señal secretora (también conocida como secuencia líder, preprosecuencia o presecuencia) puede ser provista en el vector recombinante. La secuencia señal secretora se une a la secuencia de ADN que codifica el péptido en el marco de lectura correcto. Las secuencias señal secretoras están situadas normalmente en 5' de la secuencia de ADN que codifica el péptido. La secuencia señal secretora puede ser aquella normalmente asociada con el péptido o puede ser de un gen codificador de otra proteína segregada.

Para la secreción desde células de levadura, la secuencia señal secretora puede codificar cualquier péptido señal que asegure la dirección eficaz del péptido expresado en el conducto secretor de la célula. El péptido señal puede ser un péptido señal producido de forma natural o una parte funcional del mismo, o puede ser un péptido sintético. Se ha descubierto que los péptidos señal adecuados son el péptido señal de factor α (véase US 4,870,008), el péptido señal de la amilasa salival del ratón (véase O. Hagenbuchle et al., Nature 289, 1981; pp. 643-646), un péptido señal de la carboxipeptidasa modificado (véase L.A. Valls et al., Cell 48, 1987, pp. 887-897), el péptido señal de la levadura BAR1 (véase WO 87/02670), o el péptido señal de proteasa aspártica 3 (YAP3) de la levadura (véase M. Egel-Mitani et al., Yeast 6, 1990, pp. 127-137).

Para una secreción eficaz en la levadura, una secuencia codificadora de un péptido líder puede también ser insertado corriente abajo de la secuencia señal y corriente arriba de la secuencia de ADN que codifica el péptido GLP-2. La función del péptido líder es permitir que el péptido expresado sea dirigido desde el retículo endoplasmático al aparato de Golgi y, posteriormente, a una vesícula secretora para la secreción en el medio de cultivo (es decir, exportación del péptido a través de la pared celular o al menos a través de la membrana celular en el espacio periplásmico de la célula de levadura). El péptido líder puede ser el líder del factor α de levadura (cuyo uso se describe en p. ej. US 4,546,082, EP 16 201, EP 123 294, EP 123 544 y EP 163 529). De forma alternativa, el péptido líder puede ser un péptido líder sintético, es decir, un péptido líder no encontrado en la naturaleza. Los péptidos líder sintéticos pueden, por ejemplo, ser contruidos como se describe en el documento WO 89/02463 o WO 92/11378.

Para el uso en hongos filamentosos, el péptido señal puede convenientemente derivarse de un gen codificador de glucoamilasa o amilasa de *Aspergillus sp.*, un gen codificador de proteasa o lipasa de *Rhizomucor miehei*, lipasa de *Humicola lanuginosa*. El péptido señal es preferiblemente derivado de un gen codificador de TAKA amilasa de *A. oryzae*, α -amilasa neutra de *A. niger*, amilasa estable en ácido de *A. niger* o glucoamilasa de *A. niger*.

Para el uso en células de insectos, el péptido señal puede convenientemente derivarse de un gen de insecto (véase WO 90/05783), como el péptido señal precursor de la hormona adipocinética del lepidóptero *Manduca sexta* (véase US 5,023,328).

Los procedimientos usados para ligar las secuencias de ADN codificadoras del péptido GLP-2, el promotor y, opcionalmente, el terminador y/o la secuencia señal secretora, respectivamente, y para introducirlos en vectores adecuados que contienen la información necesaria para la replicación, son bien conocidos para los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Sambrook et al., op cit.)

La secuencia de ADN que codifica el péptido GLP-2 introducida en la célula huésped puede ser homóloga o heteróloga al huésped en cuestión. Si es homóloga a la célula huésped, es decir, producida por la célula huésped en la naturaleza, normalmente estará operativamente conectada a otra secuencia promotora o, si es aplicable, a otra secuencia señal secretora y/o secuencia terminadora distinta en su ambiente natural. El término "homólogo" incluye una secuencia de ADN que codifica un polipéptido nativo al organismo huésped en cuestión. El término "heterólogo" incluye una secuencia de ADN no expresada por la célula huésped en la naturaleza. Así, la secuencia de ADN puede ser de otro organismo o puede ser una secuencia sintética.

La célula huésped en la que se introduce el constructo de ADN o el vector recombinante de la invención puede ser cualquier célula capaz de producir el presente péptido e incluye bacterias, levaduras, hongos y células eucarióticas superiores.

Ejemplos de células huéspedes bacterianas que, en cultivo, son capaces de producir el péptido GLP-2 son las bacterias grampositivas como las cepas de *Bacillus*, como las cepas de *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. lentus*, *B. brevis*, *B. stearothermophilus*, *B. alkalophilus*, *B. ainyloliquefaciens*, *B. coagulans*, *B. circulan*, *B. lautus*, *B. megatherium* o *B. thuringiensis*, o cepas de *Streptomyces*, como *S. lividans* o *S. murinus*, o bacterias gramnegativas como *Echerichia coli*. La transformación de las bacterias puede efectuarse por la transformación del protoplasto o mediante el uso de células competentes de manera conocida per se (cf. Sambrook et al., supra).

Cuando el péptido se expresa en bacterias como la *E. coli*, el péptido puede ser retenido en el citoplasma, normalmente como gránulos insolubles (conocidos como cuerpos de inclusión) o puede ser dirigido al espacio periplásmico por una secuencia de secreción bacteriana. En el primer caso, las células son lisadas y los gránulos son recuperados y desnaturizados, después de lo cual el péptido es replegado al diluir el agente desnaturizante. En el último caso, el péptido puede ser recuperado del espacio periplásmico alterando las células, p. ej. por sonicación o impacto osmótico, para liberar el contenido del espacio periplásmico y recuperar el péptido.

Ejemplos de líneas celulares de mamíferos adecuadas son las líneas celulares COS (ATCC CRL 1650), BHK (ATCC CRL 1632, ATCC CCL 10), CHL (ATCC CCL39) o CHO (ATCC CCL 61). Se describen métodos de transfección de células de mamíferos y secuencias de ADN de expresión introducidas en las células en, p. ej., Kaufman and Sharp, J Mol. Biol. 159 (1982), 601-621; Southern and Berg, J. Mol Appl. Genet. 1(1982), 327 -341; Loyter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79 (1982), 422-426; Wigler et al., Cell 14 (1978), 725; Corsaro and Pearson, Somatic Cell Genetics 7 (1981), 603, Graham and van der Eb, Virology 52 (1973); 456; y Neumann et al., EMBO J. 1 (1982), 841-845.

Ejemplos de células adecuadas de levadura incluyen células de *Saccharomyces spp.* o *Schizosaccharomyces spp.*, en particular cepas de *Saccharomyces cerevisiae* o *Saccaromyces kluyveri*. Se describen métodos para transformar células de levadura con ADN heterólogo y producir polipéptidos heterólogos a partir de las mismas, p. ej. en las patentes US 4,599,311, US 4,931,373, US 4,870,008, 5,037,743, y US 4,845,075. Las células transformadas son seleccionadas por un fenotipo determinado por un marcador seleccionable, normalmente resistencia a medicamentos o capacidad para crecer en ausencia de un nutriente particular: p. ej. leucina. Un vector preferido para el uso en levaduras es el vector POT1 descrito en US 4,931 373. La secuencia de ADN que codifica el péptido GLP-2 puede ser precedida por una secuencia señal y, opcionalmente, una secuencia líder, p. ej. en el modo descrito anteriormente. Otros ejemplos de células de levadura adecuadas son las cepas de *Kluyveromyces*, como la *K. lactis*, *Hansenula*, p. ej. *H. polymorpha* o *Pichia*, p. ej. *P. pastoris* (véase Gleeson et al., J. Gen. MicroBiol. 132, 1986; pp. 3459-3465; US 4,882,279).

Ejemplos de otras células fúngicas son las células de hongos filamentosos, p. ej. *Aspergillus spp.*, *Neurospora spp.*, *Fusarium spp.* o *Trichoderma spp.*, en particular cepas de *A. oryzae*, *A. nidulans* o *A. Niger*. Se describe el uso de *Aspergillus spp.* para la expresión de proteínas en, p. ej., las patentes EP 272 277 y EP 230 023. La transformación de *F. oxysporum* puede por ejemplo realizarse como se describe en Malardier et al., 1989, Gene 78: 147-156.

Cuando se emplea un hongo filamentosos como célula huésped, éste puede ser transformado con el constructo de ADN que codifica el péptido GLP-2, integrando convenientemente el constructo de ADN en el cromosoma huésped para obtener una célula huésped recombinante. Esta integración es generalmente considerada una ventaja puesto que la secuencia de ADN es más probable que se mantenga estable en la célula. La integración de los constructos de ADN en el cromosoma huésped puede realizarse según métodos convencionales, p. ej. por recombinación heteróloga u homóloga.

La transformación de las células de insectos y la producción en las mismas de polipéptidos heterólogos puede realizarse como se describe en las patentes US 4,745,051; US 4,879,236; US 5,155,037; 5,162,222; EP 397,485. La línea celular de insectos, usada como huésped, puede idóneamente ser una línea celular de *Lepidoptera*, como células de *Spodoptera frugiperda* o de *Trichoplusia ni* (véase US 5,077,214). Las condiciones de cultivo pueden idóneamente ser como las descritas en, por ejemplo, WO 89/01029 o WO 89/01028, o cualquiera de las referencias mencionadas.

La célula huésped transformada o transfectada anteriormente descrita es posteriormente cultivada en un medio nutritivo adecuado bajo condiciones que permitan la expresión del péptido GLP-2, después de lo cual el péptido GLP2 resultante es recuperado del cultivo.

El medio usado para cultivar las células puede ser cualquier medio convencional adecuado para el crecimiento de células huéspedes, como medios mínimos o complejos que contengan los suplementos apropiados. Los medios adecuados están disponibles por proveedores comerciales o pueden prepararse según las fórmulas publicadas (p. ej. en catálogos de la American Type Culture Collection). El péptido GLP-2 producido por las células puede posteriormente ser recuperado del medio de cultivo por procedimientos convencionales que incluyen la separación de las células huéspedes del medio mediante centrifugado o filtración, precipitación de los componentes proteínicos del sobrenadante o filtrado mediante una sal, p. ej. sulfato amónico, purificación por una variedad de procedimientos cromatográficos, p. ej. cromatografía de intercambio iónico, cromatografía por filtración en gel, cromatografía de afinidad o similares.

En la composición farmacéutica de la invención, el péptido GLP-2 puede formularse por cualquiera de los métodos establecidos de formulación de composiciones farmacéuticas, p. ej. como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985. La composición puede realizarse en una forma adecuada por infusión o inyección sistémica y, como tal, ser formulada con un vehículo líquido adecuado como agua esterilizada, una solución salina isotópica o de glucosa. Las composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, las cuales son bien conocidas en la técnica. Las soluciones acuosas resultantes pueden ser envasadas para su uso o filtradas bajo condiciones asépticas y liofilizadas, la preparación liofilizada siendo combinada con la solución acuosa estéril antes de su administración. La composición puede contener las sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables que se requieran para aproximarse a las condiciones fisiológicas, como agentes tamponantes, agentes ajustadores de la tonicidad y similares, por ejemplo, acetato sódico, lactato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, etc.

La composición farmacéutica de la presente invención puede también adaptarse para la administración nasal, transdérmica, pulmonar o rectal. El portador o diluyente farmacéuticamente aceptable empleado en la composición puede ser cualquier soporte sólido convencional. Ejemplos de portadores sólidos son lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, ágar, pectina, acacia, estearato magnésico y ácido esteárico. De forma similar, el portador o diluyente puede incluir cualquier material de liberación sostenida conocido en la técnica, como glicérol monoestearato o glicérol diestearato, solo o mezclado con cera.

5 Puede resultar particularmente ventajoso proporcionar la composición de la invención en forma de formulación de liberación sostenida. Como tal, la composición puede formularse en forma de microcápsulas o micropartículas que contienen el péptido GLP-2 encapsulado o disperso en un polímero biodegradable adecuado, aceptable farmacéuticamente, como ácido poliláctico, ácido poliglicólico o un copolímero de ácido láctico/ácido glicólico.

10 Para la administración nasal, la preparación puede contener el péptido GLP-2 disuelto o suspendido en un portador líquido, en particular un portador acuoso, para su aplicación en aerosol. El portador puede contener aditivos como agentes de solubilización, p. ej. propilenglicol, agentes tensioactivos, intensificadores de la absorción como lecitina (fosfatidilcolina) o ciclodextrina, o conservantes como parabenos.

15 Generalmente, los compuestos de la presente invención se dispensan en forma de dosificación unitaria comprendiendo 0,5-500 mg del péptido junto con un portador farmacéuticamente aceptable por dosificación unitaria.

20 El péptido GLP-2 es considerado ventajoso para ser usado en la supresión del apetito o la inducción a la saciedad, así como para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con la mala regulación del apetito. Ejemplos de este tipo de enfermedades o trastornos son la obesidad y la diabetes tipo II. La dosificación del péptido GLP-2 administrado a un paciente variará según el tipo y la gravedad de la enfermedad que debe tratarse, pero generalmente estará en un margen de aproximadamente 10 µg/kg a 5 mg/kg de peso corporal.

25 En la composición farmacéutica de la invención, el péptido GLP-2 puede estar combinado con otro agente supresor del apetito o agente inductor de la saciedad. Un ejemplo de este tipo de agentes es el GLP-1, que ha demostrado tener algún efecto en la supresión del apetito (véase M.D. Turton et al., Nature 379, 4 January 1996; pp. 69-72).

30 Además, se ha observado que el péptido GLP-2 en una forma adecuadamente marcada, p. ej., el péptido GLP2 radiomarcado puede ser usado para identificar un receptor de GLP-2, en estudios de enlace usando tejido(s) que supuestamente deberían expresar el receptor de GLP-2, p. ej. tejidos del hipotálamo. Una vez localizado por el enlace de GLP-2, el receptor puede ser clonado por clonación de expresión, es decir, mediante la preparación de una biblioteca de ADNc del tejido en cuestión, clonación del ADNc en vectores adecuados e introducción de los vectores en una célula apropiada para efectuar la expresión del ADNc, después de lo cual un clon que expresa el receptor es identificado por enlace con el GLP-2. Una línea celular que exprese de manera estable el receptor puede entonces ser usada en un ensayo de selección para agonistas del GLP-2 (es decir, compuestos que actúan en el receptor para inducir la saciedad o suprimir el apetito) o antagonistas del GLP-2 (es decir, compuestos que antagonizan la acción del GLP2 en el receptor, p. ej. para su uso en el tratamiento de la anorexia provocada por un cáncer o la anorexia nerviosa).

35 A continuación se enumeran formas de realización de la presente invención:

1. Un péptido con la siguiente secuencia de aminoácidos HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD
2. Una composición farmacéutica que comprende el péptido según la invención junto con un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 Los ejemplos son para fines ilustrativos solamente y no se refieren al péptido de la invención.

Ejemplo 1

45 Extracción de etanol ácido de tejido tumoral

50 Se produjeron tumores anorexigénicos en ratas tal como se ha descrito anteriormente (Madsen, O.D. et al.(1993) Endocrinology 133, 2022-2030). Cincuenta tumores anorexigénicos 12C3AN (MSL-G-AN) (a -80°C) correspondientes a 50,07 g de tejido húmedo fueron homogeneizados a 4°C con 700 ml de etanol ácido (96% etanol/0,7M HCl, 3/1, vol/vol). La homogeneización se efectuó durante 5 minutos en una mezcladora comercial Waring preenfriada (4°C) de 2 litros a velocidad máxima. Tras la homogeneización, la mezcla fue agitada a 4°C durante 16 horas. La mezcla fue centrifugada a 9000 RPM a 4°C durante 1 hora. El volumen del sobrenadante fue reducido a un 20% mediante rotación al vacío. Durante este proceso, en el cual se eliminó la parte principal del etanol, se formó algún precipitado. Este precipitado fue eliminado por centrifugado a 4°C durante una hora a 20.000 RPM. El sobrenadante, el cual todavía contenía algún material tipo lípido, fue filtrado y aplicado a una columna de LiChroprep RP-1 8 (Merck) (2,5 x 10 cm) equilibrada con un 0,1% de TEA a una velocidad de flujo de 2 ml/mm. La columna fue lavada con 100 ml de 0,1% de TEA a una velocidad de flujo de 4 ml/min. El material unido fue eluido con 400 ml de 0,1% de TEA conteniendo un 70% (vol/vol) de acetónitrilo. El acetónitrilo fue eliminado mediante rotación al vacío y la mezcla resultante fue liofilizada. Tras la liofilización, el material fue disuelto en 50 ml de agua y el pH ajustado a 5,3 con 425 µl de 1 N de NaOH. La titulación posterior de la mezcla a pH 6,0 dio como resultado la formación de un precipitado. Tras una nueva titulación a pH 5,3 el precipitado fue nuevamente disuelto. En consecuencia, el pH se mantuvo a 5,3 y la mezcla fue liofilizada.

60 La producción total de material liofilizado de 50 tumores fue 359 mg de polvo seco.

Ejemplo 2Primera fase de purificación: filtración en gel en Sephadex G-75

5 El material liofilizado (278 mg) del extracto del etanol ácido correspondiente a 38 tumores individuales fue nuevamente disuelto en 20 ml de 1 M HAc y aplicado a una columna de Sephadex G75 (5 x 50 cm). La columna fue equilibrada y eluida con 1 M HAc a una velocidad de flujo de 55 ml/h, y las fracciones equivalentes a 10 ml recogidas. Se registró una absorción a 280 nm para cada fracción. El cromatograma de la filtración en gel se muestra en la Figura 1. Las fracciones individuales fueron agrupadas en las siguientes 5 fracciones principales: G1 (Et 30-39), G2 (Fr. 40-45), G3 (Fr. 46-66), G4 (Fr. 67-91) y G5 (Fr. 92-118) y sometidas a un ensayo biológico tras la liofilización.

Ejemplo 3Segunda fase de purificación: HPLC preparativa del grupo G4

15 Algunas de las actividades supresoras del apetito de los grupos de filtración en gel se observaron en el grupo G4, y este grupo fue adicionalmente fraccionado por HPLC preparativa. El material liofilizado G4 (correspondiente a 80 tumores) fue disuelto en 15 ml de 0,1% de TFA y bombeado sobre una columna Vydac 214TP1022 C4 (2,2 x 25 cm) equilibrada en 0,1% de TEA. La columna fue lavada con 20 ml de 0,1% de TFA, seguido de 100 ml de MeCN/H₂O/TFA (10,0:89,9:0,1, y/y/y). El material fue eluido a 25°C a una velocidad de flujo de 4 ml/min con un gradiente lineal formado a partir de MeCN/H₂O/TFA (10:79,9:0,1 v/v/v) y MeCN/H₂O/TFA (65,0:34,9:0,1, v/v/v) durante más de 110 minutos. La absorción de UV fue controlada a 214 nm y 280 nm. El cromatograma de HPLC (controlado a 280 nm) se muestra en la Figura 2. Se generaron fracciones correspondientes a 10 grupos principales como indica la Figura 2.

25 El volumen fue reducido aproximadamente a un 25% por rotación al vacío y las fracciones fueron liofilizadas y comprobadas en el ensayo biológico.

Se encontró actividad supresora del apetito en la fracción G4H9 (Ejemplo 6) y los péptidos de esta fracción fueron analizados mediante el análisis de la secuencia de aminoácidos y el análisis de espectrometría de masas (Ejemplo 4).

Ejemplo 4Caracterización química de los péptidos en la fracción G4H9

35 El análisis de la secuencia de aminoácidos se efectuó por degradación de Edman automatizada usando un secuenciador en fase gas Modelo 477 de Applied Biosystems esencialmente como describe el fabricante. El análisis de espectrometría de masas fue realizado usando un sistema API III LC/MS/MS (Sciex, Thornhill, Ont., Canada). El instrumento cuadrupolar triple tiene un rango de masa-carga (m/z) de 2400 y se ajusta con una interfaz de electrospray asistida neumáticamente (también denominada de pulverización iónica) (Bruins, AP., Covey, TR., & Henion, J.D. (1987) Anal. Chem. 59,2642-2646 y Covey, T.R., Bonner, R.F., Shushan, B.I., & Henion, J.D. (1988) Rapid Commun. Mass Spectrom. 2, 249-256). La introducción de la muestra fue realizada mediante una bomba de infusión de jeringuilla (Sage Instruments, Cambridge, MA) a través de un capilar fundido (75 mm i.d.) con una velocidad de flujo líquido establecida en 0,5-1 ml/min. La escala del instrumento m/z fue calibrada con iones de amonio aductos de carga única de glicoles de poli(propileno) (PPGs) bajo resolución de unidad. La exactitud en las medidas de la masa es generalmente superior a un 0,02%.

Fracción G4H9

Se encontró que el péptido dominante en esta fracción tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

H A D G S F S D E M N T I L D N L A T R D F I N W L I Q T K I T D

50 El peso molecular encontrado según la espectrometría de masas fue: 3796.

Este péptido es idéntico al GLP-2 de rata (1-33). También se encontraron cantidades menores de los siguientes dos péptidos:

D F P E E V A I A E E L G R R H A D G S F S D E M N T I L D N L A T R D F I N W L I Q T K I T D y

H D E F E R H A E G T F T S D V S S Y L E G Q A A K E F I A W L V K G R

55 Estos péptidos son idénticos al GLP-2 de rata, el cual está extendido de forma N-terminal con el péptido espaciador 2 y el GLP- 1 de rata (1-36 amida), respectivamente.

Ejemplo 5Método de prueba para medir la supresión del apetito en ratones

60 Los ratones fueron privados de su alimentación habitual durante dos días y se les ofreció acceso libre a una solución de sacarosa a un 20% el primer día de la privación de alimentos. Después del periodo de dos días de privación de los alimentos, se les inyectó por vía intraperitoneal 0,5 ml de una solución que contenía la sustancia de prueba. Treinta minutos después de la inyección, los ratones fueron colocados individualmente en ocho cajas de prueba de 15 cm² con un suelo de rejilla de acero inoxidable y un tubo de cristal con bebida introducido en la caja. El tubo con bebida estaba

conectado a un depósito que contenía una solución de sacarosa al 20% y el interior del tubo con bebida contenía un electrodo que permitía la detección de contactos de la bebida con la solución mediante medición del flujo de una débil (imperceptible) corriente eléctrica a través de los ratones por un aparato electrónico conectado al electrodo del tubo con la bebida y al suelo de rejilla de acero inoxidable. El consumo de la solución de sacarosa fue medido durante un período de 10 minutos mediante registro electrónico de la cantidad total de contactos con la solución de sacarosa durante la sesión de prueba. El grado de supresión del apetito producido por la sustancia de prueba dada fue determinada por comparación estadística de la duración del consumo de sacarosa por los ratones de control (tratados con un vehículo) con la de los ratones tratados con una sustancia de prueba. El grado de supresión del apetito en un grupo de ratones tratado fue expresado como porcentaje de la respuesta del grupo de control.

Ejemplo 6

Prueba de supresión del apetito en ratones mediante fracciones conteniendo GLP-2

Los ratones fueron evaluados para determinar la supresión del apetito (ver Ejemplo 5) tras un tratamiento con una sustancia de prueba. La sustancia de prueba consistía en extractos del tumor de glucagonoma anorexigénico preparado según el Ejemplo 3 (fracción G4 de la filtración en gel) o según el Ejemplo 4 (fracción G4H9 de HPLC) disueltos en suero salino tamponado con fosfato. La solución de prueba, la cual contenía material liofilizado de la fracción G4 de la filtración en gel correspondiente a 3,3 tumores, suprimió el consumo de sacarosa en un 72%. De las 10 subfracciones de HPLC de la fracción G4 de la filtración en gel (ver Ejemplo 4 y figura 2), sólo la fracción que contenía el GLP-2, G4H9, presentó una supresión estadísticamente significativa del apetito, suprimiendo el consumo de sacarosa en un 49%, cuando se proporcionó material liofilizado correspondiente a 5,3 tumores.

Ejemplo 7

Prueba para determinar la supresión del apetito en ratones mediante GLP-2 sintético

Los ratones fueron evaluados para determinar la supresión del apetito como se describe en el ejemplo 5 tras un tratamiento con una sustancia de prueba consistente en GLP-2 porcino sintético disuelto en suero salino tamponado con fosfato. El GLP-2 porcino tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

H A D G S F S D E M N T V L D N L A T R D F I N W L L H T K I T D.

Una inyección intraperitoneal de la solución de prueba consistente en 50 microgramos de GLP-2 porcino sintético suprimió el consumo de sacarosa en un 38%.

Ejemplo 8

Método de prueba para medir la supresión del apetito en ratones

El método es como en el ejemplo 5, pero en lugar de un 20% de sacarosa se emplea un preparado de leche para lactantes (Complan®). La sustancia de prueba se disuelve en un vehículo consistente en suero salino tamponado con fosfato con un 1% de albúmina. Las sustancias de prueba disueltas en el diluyente se inyectan bien por vía intravenosa (IV) en un volumen de 100 microlitros o por vía intracerebroventricular (ICV) en un volumen de 10 microlitros.

Ejemplo 9

Prueba para determinar la supresión del apetito en ratones mediante GLP-2 sintético

Los ratones fueron evaluados para determinar la supresión del apetito como se describe en el Ejemplo 8, tras un tratamiento con una sustancia de prueba consistente en el péptido GLP-2 humano sintético. El GLP-2 humano tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

H A D G S F S D E M N T I L D N L A A R D F I N W L I Q T K I T D.

Una inyección IV de la solución de prueba consistente en 3 microgramos del GLP-2 humano sintético suprimió el consumo de leche en un 24%, mientras que las inyecciones ICV de 3 microgramos y 10 microgramos del GLP-2 humano sintético suprimió el consumo de leche en un 32% y 35%, respectivamente.

REIVINDICACIONES

1. Péptido con la siguiente secuencia de aminoácidos
HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD
2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende el péptido según la reivindicación 1.
3. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, en forma liofilizada.
4. Composición farmacéutica según la reivindicación 2, que comprende:
- un vehículo líquido adecuado, y opcionalmente sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables.
5. Composición farmacéutica según una de las reivindicación 2-4, en forma de dosificación unitaria que comprende 0,5 mg-500mg del péptido junto con un portador farmacéuticamente aceptable.
6. Secuencia de ADN que codifica el péptido según la reivindicación 1.
7. Célula que comprende la secuencia de ADN según la reivindicación 6.



