

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 148**

51 Int. Cl.:
A61K 38/17 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 1/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09075024 .1**
96 Fecha de presentación: **17.03.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **2060266**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.05.2009**

54 Título: **PP2-36, AGONISTA DEL RECEPTOR DE SELECCIÓN Y4 PARA INTERVENCIONES TERAPÉUTICAS.**

30 Prioridad:
17.03.2004 DK 200400436
01.04.2004 US 558932 P
06.07.2004 US 585964 P
14.02.2005 GB 0503110

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.12.2011

73 Titular/es:
7TM PHARMA A/S
FREMTIDSVEJ 3
2970 HORSBOLM, DK

72 Inventor/es:
Schwartz, Thue

74 Agente: **García Egea, Isidro José**

ES 2 371 148 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

PP2-36, AGONISTA DEL RECEPTOR DE SELECCIÓN Y4 PARA INTERVENCIONES TERAPÉUTICAS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con el péptido pancreático PP2.36 con número de identificación secuencial 10 que actúa como un agonista selectivo del Y4 relativo a los receptores Y1 y Y2, a su uso en el tratamiento de afecciones que respondan a la activación de los receptores Y4, por ejemplo para el tratamiento de la obesidad y el sobrepeso, y afecciones en las que las anteriores se consideran factores que contribuyen, diarrea e hipersecreción intestinal.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La familia de péptidos pliegue PP – NPY (Neuropéptido Y) (secuencia humana – número de identificación secuencial nº 1), PYY (Péptido YY) (secuencia humana – número de identificación secuencial nº 2), y PP (Polipéptido Pancreático) (secuencia humana – número de identificación secuencial nº 3), son péptidos C-terminalmente asemejados a amidas, de 36 amino ácidos, homólogos, naturalmente secretados, que se caracterizan por una estructura común tri – dimensional – el pliegue PP – que es sorprendentemente estable incluso en solución acuosa diluida y es importante para el reconocimiento por el receptor de los péptidos.

Inicialmente, la estructura de rayos X del PP aviar se caracterizaba en gran detalle por medio del análisis cristalográfico de rayos X a una resolución de 0.98 Å y la estructura única obtenía su nombre de este péptido (Blundell et al. 1981, Proc.Natl.Acad.Sci. USA 78:4175-79; Glover et al. 1984, Eur.J.Biochem. 142:379-85). Subsiguientemente, la estructura de pliegue PP de otros miembros de la familia han sido analizados a través de análisis espectroscópico NMR. Tanto los análisis de rayos X y NMR son, obviamente, ejecutados en condiciones de solidez o de alta concentración; sin embargo, el análisis de dicroísmo circular detallado sugiere que NPY y PP adoptan la estructura de pliegue PP incluso en solución acuosa, lo que es inusual para un péptido tan pequeño (Fuhlendorff et al. 1990 J.Biol.Chem. 265: 11706-12). De forma importante, el análisis de la estabilidad proteolítica de los péptidos y los fragmentos y análogos de los mismos indican claramente que, por ejemplo, la longitud completa PP1-36 se mantiene en una configuración plegada incluso en una solución acuosa diluida que lo protege de la degradación por ciertas enzimas que pronta y rápidamente degradan los análogos que no pueden adoptar la estructura de pliegue PP debido a sustituciones menores (Schwartz et al. 1990 Annals NY Acad. Sci. 611: 35-47).

La estructura de pliegue PP común a NPY, PYY y PP consiste en 1) una hélice similar a poliprolina N-terminal (correspondiente a los residuos 1 a través de 8 con Pro2, Pro5, y Pro8), seguida por 2) una zona de cambio a beta tipo I (correspondiente a los residuos 9 a través de 12) seguida por 3) una hélice alfa anfifílica (residuos 13-30) que permanece en forma anti - paralela con la hélice de poliprolina con un ángulo de alrededor de 152 grados entre los ejes de las hélices, y 4) un hexapéptido C-terminal (residuos 31-36). La estructura plegada se estabiliza por medio de interacciones hidrofóbicas entre las cadenas laterales de la hélice alfa anfifílica que inter – digitan estrechamente con los tres residuos de prolina hidrofóbica (Schwartz et al 1990). Además de los residuos principales en el receptor que reconocen al hexapéptido C-terminal, están los residuos hidrofóbicos del núcleo, que estabilizan la estructura de pliegue PP, que se conservan a lo largo de la familia de péptidos de pliegue PP. La Figura 1A muestra la secuencia NPY, con residuos que se conservan entre NPY, PYY y PP mostrados como un texto blanco sobre fondo negro. La Figura 1^a, asimismo, ilustra los elementos de la estructura de pliegue PP descritos *supra*. El hexapéptido C-terminal, que es importante para el reconocimiento del receptor está desestructurado, pero el pliegue PP proporciona un andamiaje estable, que presenta el hexapéptido C-terminal a los receptores (ilustrado en la Fig. 1 B), lo que es dependiente o independiente, en grado variable, sobre partes del N-término de los péptidos. El análisis espectroscópico NMR ha demostrado que la partes C- lejana y N-terminal de, por ejemplo, NPY, son bastante móviles, lo que indica que el pliegue PP está constantemente en peligro de ser “descomprimido” del extremo terminal libre.

NPY es un neuropéptido de espectro amplio con múltiples acciones en varias partes tanto del sistema nervioso central como del periférico actuando por medio de un número de diferentes subtipos receptores, principalmente: Y1, Y2, Y4 y Y5. Los principales receptores NPY son el receptor Y1, que, generalmente, es el receptor post-sináptico que porta la “acción” de las neuronas NPY y el receptor Y2 que, generalmente, es un receptor pre-sináptico, inhibitorio. Este es también el caso en el hipotálamo, donde las neuronas NPY – que también expresan el antagonista receptor melanocortina / agonista inverso PRD (péptido relacionado con dasyproctae) – actúan como las neuronas “sensoriales” primarias en la rama estimuladora del núcleo curvado. Así, en este el “núcleo sensor” para el control del apetito y despliegue de energía, las neuronas NPY/PRD conjuntamente con las neuronas POMC/CART inhibitorias monitorizan el estado hormonal y nutricional del cuerpo en cuanto estas neuronas son el objetivo tanto de los reguladores a largo plazo como leptina e insulina y reguladores a corto plazo como ghrelina y PYY (ver *infra*). Las neuronas NPY/PRD estimuladoras se proyectan, por ejemplo, hacia el núcleo paraventricular – también el hipotálamo- donde sus receptores objeto post-sinápticos se cree que son receptores Y1

y Y5. El NPY es el compuesto más potente conocido en relación con el incremento de ingesta de alimento, en cuanto los roedores bajo inyección intracerebroventricular (ICV) de NPY comerán hasta que, literalmente, estallen. El PRD de las neuronas NPY/PRD actúa como un antagonista principalmente sobre receptores melanocortina tipo 4 (MC-4) y bloquean la acción de péptidos derivados de POMC – principalmente α MSH – sobre este receptor. En cuanto la señal del receptor MC4 actúa como un inhibidor de la ingesta de alimento, la acción de PRD es – exactamente igual que la acción NPY – una señal de estímulo para la ingesta de alimento (esto es, una inhibición de una inhibición). En las neuronas NPY/PRD se encuentran receptores Y2 inhibitorios – pre-sinápticos –, que son el objeto tanto de NPY liberado localmente además de un objetivo para la hormona PYY del intestino – otro péptido del pliegue PP.

El PYY es liberado durante una comida – en proporción al contenido calórico de la comida – a partir de células entero-endocrinas en el intestino delgado extremo y el colon, para actuar tanto en la periferia, sobre funciones del tracto GI y centralmente como una señal de saciedad. Periféricamente, se cree que el PYY actúa como inhibidor – una “rotura ilícita”- sobre, por ejemplo, la motilidad del tracto GI, ácido gástrico y secreción pancreática exocrina. De forma central, se cree que el PYY actúa principalmente sobre los receptores Y2 inhibitorios, pre-sinápticos sobre las neuronas NPY/PRD en el núcleo curvado, que se cree que accede desde la sangre (Batterham et al. 2002 Nature 418:650-4). El péptido se libera como PYY1-36, pero una fracción – aproximadamente el 50%- circula como PYY3-36, que es un producto de la degradación por dipeptidilpeptidasa-IV, una enzima que elimina un dipéptido desde el término-N de un péptido, siempre que un Pro o Ala se encuentre en la posición dos, como en todos los tres péptidos del pliegue PP – PP, PYY y NPY (Eberlein et al., 1989 Peptides 10: 797-803). Así, el PYY en la circulación es una mezcla de PYY1-36, que actúa tanto sobre los receptores Y1 como Y2 (también como Y4 y Y5 con afinidades diversas), y PYY3-36 – que tiene menos afinidades para los receptores Y1, Y4 y Y5 que para el receptor Y2.

El PP es una hormona, que se libera a partir de células endocrinas de los islotes pancreáticos, casi exclusivamente regidos por estímulos colinérgicos vagales obtenidos especialmente por la ingestión de alimento (Schwartz 1983 Gastroenterology 85:1411-25). El PP tiene efectos diversos sobre el tracto gastrointestinal, pero ninguno de estos se observa en células y órganos aislados, y todos ellos aparentan ser dependientes de un suministro nervioso vagal intacto (Schwartz 1983 Gastroenterology 85:1411-25). De acuerdo con esto, los receptores PP, que son llamados receptores Y4, se ubican en el tronco del encéfalo con una fuerte manifestación en neuronas motoras vagales – cuya activación tiene como resultado los efectos del PP como una hormona de saciedad (Whitecomb et al. 1990 Am.J.Physiol. 259:G687-9 1, Larsen & Kristensen 1997 Brain Res.Mol.Brain Res 48:1-6). Debería hacerse notar que el PP de la sangre tiene acceso a esta zona del cerebro en cuanto la barrera cerebral sanguínea es “porosa” en esta zona en la que se perciben diversas hormonas de la periferia. Recientemente, se ha discutido que parte del efecto del PP en la ingesta alimenticia se produce a través de una acción sobre las neuronas – especialmente las neuronas POMC/CART en el núcleo curvado (Batterham et al. 2004 Abstract 3.3 International NPY Symposium en Coimbra, Portugal). El PP actúa a través de receptores Y4 para los cuales tiene una afinidad sub – nanomolar como opuesta a PYY y NPY que tienen afinidad nanomolar para este receptor (Michel et al. 1998 Pharmacol. Rev. 50: 143-150). El PP tiene también una apreciable afinidad para el receptor Y5, pero no es de probable importancia fisiológica en relación con el PP circulante debido tanto a la falta de acceso a las células en el sistema nervioso central, donde este receptor se expresa especialmente y debido a la relativamente baja afinidad para el PP.

Receptores de péptidos del pliegue PP

Hay cuatro tipos bien definidos de receptores de péptidos del pliegue PP en el hombre: Y1, Y2, Y4 y Y5, todos los cuales reconocen NPY1-36 y PYY1-36 con afinidad similar. En alguna ocasión, se sugirió un tipo de receptor Y3, que podría preferir NPY sobre PYY, pero hoy no se acepta esto como un verdadero subtipo de receptor (Michel et al. 1998 Pharmacol. Rev. 50: 143-150). Un subtipo receptor Y6 ha sido clonado, que se expresa en el hombre en una forma truncada que carece de TM-VII, además de la cola del receptor y, en consecuencia, al menos sobre sí mismo no aparenta formar una molécula receptora funcional.

Los receptores Y1 – los estudios de afinidad sugieren que Y1 se enlaza igual de bien con NPY y PYY, pero no sustancialmente con PP. La afinidad para Y1 depende de las identidades de ambas secuencias finales de la molécula del pliegue PP (NPY/PYY) – por ejemplo, residuos Tyr1 y Pro2 son esenciales – y depende de que los extremos de péptidos sean presentados exactamente en la forma correcta. En el extremo C-terminal, donde las cadenas laterales de varios de los residuos son esenciales, el receptor Y1 – como los receptores Y5 e Y4 pero no el receptor Y2- tolera ciertas substituciones en la posición 34 (normalmente un Gln) – tal como Pro (Fuhlendorff et al. 1990 J. Biol. Chem. 265: 11706-12, Schwartz et al. 1990 Annals NY Acad.Sci. 61: 35-47). Se ha informado de tales estudios de estructura-función que se refieren a las exigencias de los receptores Y1 e Y2 (Beck-Sickinger et al. 1994 Eur.J.Biochem. 225: 947-58; Beck-Sickinger y Jung 1995 Biopolímeros 37: 123-42; S611 et al. 2001 Eur.J.Biochem. 268:2828-37).

Los receptores Y2 – los estudios de afinidad sugieren que Y2 se enlaza igual de bien con NPY y PYY, pero no sustancialmente con PP. El receptor exige especialmente el extremo C-terminal del pliegue PP (NPY/PYY). Así, largos fragmentos de C-terminal – hasta por ejemplo NPY13-36 (el hélice alfa completo más el hexapéptido del

C-terminal)- se reconocen con una afinidad relativamente alta, esto es, hasta entre diez-pliegos de la afinidad del péptido en extensión completa (Scheikh et al. 1989 FEBS Lett. 245: 209-14, Scheikh et al. 1989 J.Biol.Chem. 264: 6648-54). En consecuencia, variadas supresiones de N-terminal, que eliminan el enlace al receptor Y1, aún preservan algún grado de vinculación al receptor Y2. Sin embargo, la afinidad de los fragmentos C-terminal se reduce aproximadamente diez veces en comparación con NPY/PYY incluso para fragmentos relativamente largos. El residuo Gln en la posición 34 de NPY y PYY es enormemente importante para el reconocimiento vinculante del receptor Y2 (Schwartz et al. 1990 Annals NY Acad.Sci. 611: 35-47).

Los receptores Y4 – los estudios de afinidad sugieren que Y4 enlaza PP con afinidad subnanomolar correspondiente a las concentraciones encontradas en el plasma en donde NPY y PYY se reconocen con mucha menor afinidad. Tales estudios sugieren que el receptor Y4 es altamente dependiente del extremo terminal-C de los péptidos de pliegue PP, y que las supresiones relativamente cortas de terminal-N deshabilitan las afinidades de los enlaces. Se ha informado de tales estudios de actividad de estructura relativos al receptor Y4 (Gehlert et al. 1996 Mol. Pharmacol.50: 112-18; Walker et al. 1997 Péptidos 18: 609-12).

Los receptores Y5 – los estudios de afinidad sugieren que Y5 enlaza igual de bien con NPY y PYY, y también enlaza a PP con menor afinidad, lo que, sin embargo, está por debajo de los niveles normales de circulación de esta hormona. PYY3-36 es también bien reconocido por el receptor Y5, sin embargo este receptor se expresa, en un alto grado, en el Sistema Nervioso Central donde tal péptido no puede obtener acceso al receptor de forma directa cuando se administra en la periferia.

Los péptidos del pliegue PP y sus análogos han sido sugeridos para su uso en el tratamiento de la obesidad y enfermedades relacionadas, incluyendo, por ejemplo, el síndrome de Prader Willi, basado en los efectos demostrados de ciertos de estos péptidos en modelos animales y en el hombre y en el hecho de que la gente obesa tiene bajos niveles basales de PP y PYY además de bajas respuestas alimenticias de estos péptidos (Holst JJ et al. 1983 Int.J.Obes. 7:529-38; Batterham et al. 1990 Nature). Se ha sabido desde mitad de los años setenta que PP podría afectar a la ingesta de alimento en roedores. En 1993 se informó de que la infusión de PP en pacientes con obesidad mórbida con síndrome de Prader Willi disminuía la ingesta de alimentos (Berntson et al. 1993 Peptides 14: 497-503). Recientemente, este efecto de PP fue confirmado por infusión de PP en sujetos humanos normales donde se observó una supresión del apetito de larga duración y una reducida ingesta de comida sobre 24 horas (Batterham et al. 2003, Clin. Endocrinol. Metab. 88: 3989-92).

Sin embargo, los péptidos de pliegue PP nativos no son óptimos para su uso como productos biofarmacéuticos, por ejemplo, son susceptibles a la degradación por diversas proteasas como DPP-IV. Así, los péptidos naturales no están optimizados para la estabilidad proteínica en cuanto están producidos para actuar, normalmente, durante un tiempo relativamente corto como un neuropéptido u hormona.

Para el tratamiento de las afecciones que responden a la modulación del receptor Y4, tales como obesidad y la hipersecreción intestinal sería, en consecuencia, deseable usar péptidos de pliegue PP o imitadores de péptido de pliegue PP, que actuaban como agonistas y eran específicos para el receptor Y4 buscado como objeto, y que preservan, de forma estable, elementos de la estructura de pliegue PP importantes para el enlace del receptor. En especial, sería altamente deseable usar tales agentes que son selectivos para el receptor Y4 sobre los receptores Y1 e Y2. Esto es especialmente importante, en cuanto se espera de la activación del receptor Y1 que, potencialmente, cause efectos secundarios renales y cardiovasculares no deseados tales como vasoconstricción y natriuresis. Además, la activación del receptor Y2 puede causar también efectos secundarios. Aunque no está claro aún cuál es el perfil receptor Y angiogénico realmente eficiente, los agonistas Y2 tales como HPY3-35 pueden inducir, en apariencia, revascularización en, por ejemplo, modelos de extremidades posteriores isquémicas, esto es, cuando se administra en altas dosis con constante exposición, como por ejemplo, cuando es liberado de bolitas inoperativas (Zukowska Z et al. Trends Cardiovasc Med. 2003, 13 : 86-92). La respuesta angiogénica a NPY se reduce en animales noqueados con el receptor Y2; sin embargo, la respuesta a este agonista receptor NPY del amplio espectro Y no es, de hecho, eliminada y tanto los receptores Y2 como Y5 están sobre – regulados en los vasos isquémicos (Lee et al J.Clin.Invest. 2003, 111: 1853-62). Sin embargo, un péptido del pliegue PP o un imitador de péptido del pliegue PP podría, por medio de la activación del receptor Y2, provocar efectos secundarios tales como empeorar la retinopatía, por ejemplo, en pacientes diabéticos y podría potencialmente ayudar en la neo – vascularización asociada con el crecimiento de ciertos cánceres. Así, el uso del receptor Y4 eficaz y selectivo sobre los agonistas de receptor Y1 y Y2 sería particularmente útiles en las enfermedades y afecciones susceptibles a la activación del receptor Y4.

Algunos términos comunes usados en esta memoria

Afinidad: La afinidad de un péptido a un receptor específico es dada por ejemplo como con valor IC_{50} o un valor K_i o K_d , que en un ejemplo específico no limitativo se determina en un ensayo, como en un ensayo de enlace de competición. El valor IC_{50} se corresponde con la concentración del péptido que desplaza a – para el receptor relevante dado- enlace radioactivo usado en una cantidad mucho menos que el K_d para enlace radioactivo al 50 %.

Apetito: Un deseo natural o anhelo de comida. Un apetito incrementado generalmente conduce a un comportamiento alimenticio incrementado.

Supresores del apetito: Compuestos que disminuyen el deseo de comida.

Enlace: Una interacción específica entre dos moléculas, de tal forma que ambas moléculas interactúan. El enlace de un receptor puede ser específico y selectivo, de tal forma que una molécula está enlazada preferentemente en comparación con otra molécula. El enlace específico puede ser identificado por una constante de disociación (K_d). Este valor es dependiente de la selectividad del compuesto analizado. Por ejemplo, un compuesto con un K_d que es menos de 10 nM se le considera generalmente un excelente candidato para droga. Sin embargo, un compuesto que tiene una baja afinidad, pero es selectivo para el receptor particular, puede ser también un buen candidato para droga.

Índice de Masa Corporal (IMC): Una fórmula matemática para medir la masa corporal, también llamada a veces Índice de Quetelet. El IMC se calcula dividiendo el peso (en kilogramos) por la altura² (en metros). Los estándares actuales tanto para hombres como mujeres aceptados como "normales" son un IMC de alrededor de 20 kg/m². En una realización, un IMC de más de 25 kg/m² puede ser usado para identificar un sujeto obeso. El Grado I de obesidad se corresponde con un IMC de 25 kg/m². Un Grado II de obesidad se corresponde con un IMC de 30-40 kg/m²; y un Grado III de obesidad se corresponde con un IMC mayor de 40 kg/m² (Jequier 1987 Ain. J Clin. Nutr. 45: 1035-47). Un peso corporal ideal variará entre las especies y los individuos basado en el peso, constitución corporal, estructura ósea y sexo.

Ingesta calórica o ingesta de calorías: El número de calorías (energía) consumido por un individuo. En el contexto presente, este término es idéntico al término "ingesta de energía".

Tratamiento cosmético: el término está destinado a designar un tratamiento no destinado a fines médicos, sino para mejorar el bienestar de un sujeto, por ejemplo, con relación a la apariencia de un sujeto. En el término se incluye el tratamiento de un sujeto que desea disminuir su peso sin padecer necesariamente sobrepeso u obesidad.

Ingesta de comida: La cantidad de comida consumida por un individuo. La ingesta de comida puede ser medida por volumen o por peso. En su significado se incluye i) la ingesta de comida en cuanto total cantidad de comida consumida por un individuo, y ii) ingesta de comida es la cantidad de proteínas, grasas, carbohidratos, colesterol, vitaminas, minerales o cualquier otro componente alimenticio del individuo. De forma acorde, el término ingesta de comida usado en el presente contexto es similar al término "ingesta de energía".

Dieta Diaria Normal: La ingesta alimenticia media de un individuo de una especie dada. Una dieta diaria normal puede ser expresada en términos de ingesta calórica, ingesta proteínica, ingesta de carbohidratos, y/o ingesta de grasas. Una dieta diaria normal en humanos comprende generalmente lo siguiente: de alrededor de 2.000, de alrededor de 2.400 ó de alrededor de 2.800 a significativamente más calorías. Adicionalmente, una dieta diaria normal en humanos incluye, generalmente, de alrededor de 12 g a alrededor de 45 g de proteína, de alrededor de 120 g a alrededor de 610 g de carbohidrato, y de alrededor de 11 g a alrededor de 90 g de grasas. Una dieta hipocalórica sería de no más de alrededor de 85 %, y preferiblemente no más de alrededor de 70 % de la ingesta calórica normal de un individuo humano. En animales, las exigencias calóricas y nutrientes varían dependiendo de las especies y tamaño del animal. Por ejemplo, en gatos, la ingesta calórica total por kg, además de la distribución porcentual de proteínas, carbohidratos y grasas varía con la edad del gato y el estado reproductivo.

Obesidad: Una afección en la que el exceso de grasa corporal puede poner a una persona en riesgo para su salud (ver Barlow y Dietz, Pediatrics 102:E29, 1998; National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI), Obes. Res. 6 (suppl. 2):51 S209S, 1998). El exceso de grasa corporal es el resultado de un desequilibrio en la ingesta de energía y en el consumo de energía. En una realización, el Índice de Masa Corporal (IMC) se usa para analizar la obesidad. En una realización, un IMC de alrededor de 22 kg/m² (esto es, alrededor del 10% por encima del valor normal) y hasta de alrededor de 30 kg/m² se estima como sobrepeso, especialmente de alrededor de 25.0 kg/m² y hasta 30 kg/m². Debería hacerse notar que los sujetos que tienen un IMC que es solamente ligeramente más alto que el valor normal (por ejemplo, de alrededor de 22 a alrededor de 25 kg/m²), tienen, con mucha frecuencia, un deseo de perder peso aunque esto puede ser sólo por razones cosméticas.

Potencia: La potencia *in vitro* de un compuesto se define en términos de valores EC₅₀, esto es, la concentración que lleva al 50 % del efecto máximo obtenible como se determina en y para el receptor dado relevante que firma el ensayo.

Sujeto: El sujeto puede ser cualquier sujeto, incluyendo tanto sujetos mamíferos tanto humanos como veterinarios. Así, el sujeto puede ser un humano, o puede ser un primate no humano, un animal de granja tal como porcino, bovino, ovino y aves de corral, un animal para deportes o mascotas tales como perros, gatos, caballos, hamsters y roedores.

Cantidad terapéuticamente efectiva: Una dosis suficiente para prevenir, tratar o mejorar una afección específica o enfermedad y/o aliviar signos o síntomas específicos de una afección o enfermedad específicos. El término incluye una dosis que sea suficiente o impida el avance o cause la regresión de un trastorno, o de la que es capaz de aliviar un signo o síntoma de un trastorno, o de la que es capaz de alcanzar un resultado deseado. En realizaciones relativas al tratamiento cosmético o al tratamiento de sobrepeso u obesidad, un efecto terapéutico de un agonista receptor es una cantidad suficiente para inhibir o detener la ganancia de peso, o una cantidad suficiente para disminuir el apetito, o una cantidad suficiente para reducir energía o ingesta de alimento o incrementar el consumo de energía. El término "cantidad cosméticamente efectiva" está destinada a designar una dosis que es suficiente para que el sujeto que está siendo tratado alcance un efecto deseado.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En su aspecto más amplio, la presente invención proporciona el uso de un agonista receptor Y que es selectivo para el receptor Y4 sobre los receptores Y1 e Y2, siendo dicho agonista receptor Y el péptido pancreático PP2-36 con número de identificación secuencial: 10, en la preparación de una composición para (i) reducir la ingesta alimenticia, (ii) tratamiento de obesidad o sobrepeso, (iii) tratamiento de diarrea o hipersecreción asociada con pequeña ileostomía intestinal o (iv) tratamiento de una afección en la que la obesidad o sobrepeso sea un factor contributivo, seleccionada de entre bulimia, bulimia nerviosa, Síndrome X (síndrome metabólico), diabetes, diabetes mellitus tipo 2 o diabetes mellitos no insulino-dependiente (DMNID), hiperglicemia, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, enfermedad cardiovascular, hipertensión, arterioesclerosis, enfermedad coronaria de las arterias, infarto de miocardio, enfermedad vascular periférica, ictus, enfermedad tromboembólica, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, enfermedad de la vesícula biliar, osteoartritis, apnea del sueño, síndrome ovárico poliquístico, y cáncer de mama, próstata o colon.. PP2-36 (Número de identificación secuencial: 10), es referenciado en Bard et al., J.Biol.Chem. (1995) 270: 26762-26765 y Walker et al. Peptides vol 18, no. 4, 609-612 (1997). Sin embargo, ninguna referencia divulga el uso del péptido para los propósitos de esta invención.

Gehlert et al. Molecular Pharmacology 199607 US, Vol. 50, no. 1, July 1996 (1996-07), pp. 112-118, incluye datos de enlace de receptor relativos a truncaciones de PP bovino.

PP2-36 es **selectivo para el receptor Y4 sobre los receptores Y1 e Y2**. En el presente contexto, esta condición se cumple si el agonista tiene un valor IC_{50} que es al menos pliegue-10 inferior para el Y4 que para los receptores Y1 e Y2 cuando son medidos en el test de afinidad descrito aquí. Con respecto a la potencia, PP2-36 tiene un valor EC_{50} al menos de pliegue-10 inferior para el receptor Y4 que para los receptores Y1 e Y2 cuando medidos en el test de potencia descrito aquí.

PP2-36 es un agonista receptor Y4 altamente selectivo con estabilidad mejorada en comparación con PP1-36. PP es normalmente un sustrato para la degradación DPP-IV en cuanto tiene un Pro en posición 2. Así, al eliminar el primer residuo de PP se genera un péptido donde la estructura de pliegue PP no está puesta en peligro porque el residuo 1 (Ala1) no hace ninguna interacción con la hélice anti-paralela (esto es custodiado por Pro2) y porque a PP2-36 no le gusta el péptido tipo salvaje como un sustrato para DPP-IV. De forma importante, el receptor Y4 no es dependiente de la presencia de un residuo en posición 1. Así, PP2-36 es tanto un péptido más estable y es un agonista receptor Y4 selectivo que tiene una ventana de selectividad mejorada hacia el receptor Y1.

Perfil de reconocimiento del receptor – PP2-36 enlaza con una afinidad al receptor Y4, $IC_{50}=0.64$ nM, que es similar a la afinidad de PP, $IC_{50}=0.41$. La afinidad de PP2-36 sobre los receptores Y1 e Y2 es >1000 nM (Tabla 1). PP2-36 actúa como un agonista sobre el receptor Y4 con una potencia de 0.64 nM (EC_{50}) que también es muy similar a la potencia de PP ($EC_{50}=0.85$ nM) como medida en el ensayo de movimiento de fosfato de inositol llevado a cabo en células COS-7 transfectadas como se describe en valores >1000 nM. Sin embargo, sobre el receptor Y1, PP2-36 tiene una potencia que es de 3-4 pliegues inferior a la de los valores PP, EC_{50} siendo 297 contra 83 nM (Tabla 2). Así, PP2-36 es un agonista Y4 selectivo con >300 ventana de pliegues tanto el receptor Y1 e Y2 como se determina en un ensayo *in vitro* funcional.

Estabilidad proteínica- PP2-36 tiene la ventaja en comparación con PP1-36 que es más estable y, en consecuencia, un agente biofarmacéutico mejor en cuanto no es un sustrato para DPP-IV, como PP es debido a la presencia de un residuo Pro en posición 2- y en cuanto el residuo Pro N-terminal novedoso en PP2-36 previene contra la degradación por la mayoría de otros amino péptidos. Estas propiedades de estabilidad son especialmente útiles en el contexto en donde una presencia prolongada del péptido en fluidos corporales se obtiene a través de diversos medios como modificaciones de motivo del péptido como tal o por medio de variadas formas de procedimientos farmacéuticos tales como formulaciones de liberación sostenida.

Efecto in vivo sobre ingestión alimenticia aguda- se administró o bien una solución salina o PP2-36 por inyecciones subcutáneas individuales a grupos de 8 ratones en dosis de 1 y 10 μ g por animal después de 16 horas de ayuno. En la Figura 2 se muestra la ingesta alimenticia acumulada de los ratones durante 8 horas. El agonista receptor Y4 selectivo, PP2-36 inhibió la ingesta alimenticia durante los primeros 20 minutos después de la iniciación de la comida a aproximadamente 50 % de lo deglutido por el grupo de animales que recibían solución salina. El efecto supresor del 50 % sobre la ingesta alimenticia fue observado también cuando se midió durante la primera

hora completa. El efecto de 1 ug y 10 ug de PP2-36 fue bastante similar. El efecto supresor de PP2-36 fue sostenido durante el periodo completo de 8 horas después de la inyección subcutánea individual (Fig 2). Así, PP2-36, que es altamente selectivo para el Y4 sobre los receptores Y2 e Y1 es un supresor eficiente de la ingesta de comida en ratones como se demostró previamente para PP (Asakawa et al. 1999 Peptides 20: 1445-48. Asakawa 2003 Gastroenterology 124: 1325-36). Se ha demostrado previamente que este efecto de PP es también observado en sujetos humanos normales (Batterham et al. 2003 Clin.Endocrinol.Metab. 88:3989-92) además de en pacientes con obesidad mórbida (Berntson et al. 1993 Peptides 14: 497-503).

Indicaciones Clínicas

PP2-36 es de valor en el tratamiento de afecciones que responden a la activación de receptores Y4. Tales afecciones incluyen aquellas para las cuales se indica la regulación de ingesta de energía o metabolismo de energía.

Las enfermedades o afecciones en las que la regulación de ingesta de energía o metabolismo de energía está indicada incluyen obesidad y sobrepeso, y afecciones en las que la obesidad y sobrepeso son considerados como factores contributivos, tales como la bulimia, bulimia nerviosa, Síndrome X (síndrome metabólico), diabetes, diabetes mellitus tipo 2 o Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID), hiperglicemia, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, enfermedad cardiovascular, hipertensión, arterioesclerosis, enfermedad coronaria de las arterias, infarto de miocardio, enfermedad vascular periférica, ictus, enfermedad tromboembólica, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, enfermedad de la vesícula biliar, osteoartritis, apnea del sueño, trastornos reproductivos como el síndrome ovárico poliquístico, y cáncer de mama, próstata o colon.

PP2-36 es también de importancia en el tratamiento de diarrea o hipersecreción de estomía intestinal.

1. Obesidad y sobrepeso

Se sugirió ya en los años setenta que el PP podría estar implicado en el control de la ingesta de comida. Recientemente, se ha acumulado mucha evidencia de estudios sobre roedores que muestran muy claramente que el PP es, de hecho, un péptido anorexigénico poderoso y eficiente cuando se administra periféricamente (Asakawa et al. Peptides 1999, 20; 1445-8; Katsuura et al. Peptides 2002, 23: 323-9; Asakawa et al. Gastroenterology 2003, 124:1325-36). En cuanto el PP no tiene efecto sobre el apetito, ingesta de comida, etc. En animales noqueados con Y4 es muy probable que el PP actúe a través del receptor Y4 para reducir el apetito y la ingesta de alimento (Batterham et al. 2004 abstract S3.3 del simposio Internacional sobre NPY en Coimbra [Portugal]. El PP también tiene efecto en la ingesta de alimento en animales obesos con dieta inducida. Los receptores de PP han sido encontrados en el tronco cerebral en la zona postrema y en neuronas motores vagas donde la barrera cerebral sanguínea no es eficiente y donde las hormonas circulantes tales como el PP pueden acceder a las neuronas. Así, es muy probable que los receptores de Y4 en el NTS en el tronco cerebral sean un objetivo principal a través del que el PP actúa para suprimir el apetito y la ingesta de comida. Sin embargo, evidencias recientes también apuntan a la posibilidad de que el PP pueda también actuar a través de receptores Y en el núcleo arqueado concebible en las neuronas POMC y quizás también en las NPY/AgRP (Batterham et al. Coimbra NPY meeting abstract S3.3). Se encuentran bajos niveles de PP en sujetos obesos, especialmente en el síndrome de Prader-Willi (Zipf et al. J.C.E.M. 1981, 52: 1264-6, Holst et al. 1983, Int.J.Obes. 7: 529-38, Glaser et al. Horm. Metab. 1988, 20: 288-92) y se encuentra altos niveles de PP en pacientes con anorexia nerviosa. De forma importante, la infusión de PP en el hombre disminuye el apetito y la ingesta de alimento hasta 24 horas (Batterham et al. JCEM 2003, 88: 3989-92). Así, el efecto del PP sobre la ingesta de alimento fue observado después de que los niveles de PP en la circulación hubieran vuelto a niveles normales. Tales efectos de larga duración sobre el apetito, etc., son notoriamente conocidos de otros compuestos, por ejemplo, también en la inyección ICV de AgRP. De forma importante, la infusión de PP ha mostrado el disminuir la ingesta de alimentos en pacientes con obesidad mórbida con síndrome de Prader Willi (Berntson et al 1993 Peptides 14: 497-503).

De aquí, que PP2-36 sea adecuado para su uso en un sujeto, como un mamífero, incluyendo un humano, con objeto de regular la ingesta de energía. De forma acorde, PP2-36 puede ser usado para alterar la ingesta de energía, la ingesta de alimento, y el consumo de energía. La administración de PP2-36 tiene como resultado una disminución en la cantidad, bien en el peso total o el volumen total o el contenido en calorías del alimento y/o una disminución de la ingesta de un componente alimenticio, tal como una disminución en la ingestión de lípidos, carbohidratos, colesterol o proteínas. El apetito puede ser reducido por la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de PP2-36. El apetito puede ser medido por cualquier medio conocido por un experto en la materia.

Por ejemplo, el apetito reducido puede ser evaluado por una evaluación psicológica. En tal realización, la administración del agonista receptor resulta en un cambio en el hambre, saciedad y/o plenitud percibido. El hambre puede ser evaluada por cualquier medio conocido por el experto en la materia. En una realización, el hambre es evaluada usando ensayos psicológicos, tal como por evaluación de sentimientos de hambre y percepción sensorial usando, por ejemplo, un cuestionario.

El PP2-35 puede ser usado para disminuir la motilidad del tracto GI superior como por ejemplo disminuyendo el vaciamiento gástrico. Del PP, el prototipo de agonista Y4, es conocida su aptitud para disminuir el vaciamiento gástrico. Una cantidad terapéuticamente efectiva de PP2-36 puede ser administrada al sujeto, disminuyendo en consecuencia la motilidad del tracto GI. Es bien sabido que los compuestos que disminuyen el vaciamiento gástrico tendrán un efecto beneficioso en disminuir también la ingesta de alimento en cuanto el sujeto se siente más lleno o satisfecho.

El PP2-36 puede ser usado para alterar el metabolismo de energía en un sujeto. La energía se quema en todos los procesos fisiológicos. El cuerpo puede alterar el índice de consumo de energía directamente, por modulación de la eficiencia de estos procesos, o cambiando el número o naturaleza de procedimientos que están teniendo lugar. Por ejemplo, durante la ingestión, el cuerpo gasta energía moviendo la comida a través del intestino, y digiriendo la comida, y, en el interior de las células, la eficiencia del metabolismo celular puede ser alterada para producir más o menos calor. En una realización posterior, se divulga un procedimiento aquí para cualquiera y todas las manipulaciones del circuito arqueado descrito en esta solicitud, que altera, de forma coordinada y recíproca, el consumo de energía. El consumo de energía es un resultado de metabolismo, celular, síntesis proteínica, índice metabólico, y utilización de calorías. Así, la administración periférica de PP2-36 resulta en un consumo incrementado de energía, y una eficacia disminuida de la utilización de calorías.

El PP2-36 puede ser usado para el control y tratamiento de peso, reducción o prevención de la obesidad, en especial cualquiera o más de lo siguientes: prevención y reducción de la ganancia de peso; inducción y promoción de la pérdida de peso; y reducción de la obesidad en cuanto es medida por el Índice de Masa Corporal. Como se mencionó *supra*, la invención también se relaciona con el uso del PP2-36 para controlar cualquiera o más del apetito, saciedad y hambre, en especial cualquiera o más de lo siguiente: reducción, supresión e inhibición del apetito; inducción, incremento, reforzamiento y promoción de la saciedad y sensaciones de saciedad; y reducción, inhibición y supresión de hambre y sensaciones de hambre. La divulgación también se relaciona con el uso de PP2-36 en el mantenimiento de cualquiera o más de un peso corporal deseado, un Índice de Masa Corporal deseado, una apariencia deseada y buena salud.

El PP2-36 puede ser usado para el tratamiento y/o prevención de trastornos de la alimentación, trastornos del apetito, sobrepeso, bulimia, bulimia nerviosa, Síndrome X (síndrome metabólico) o complicaciones o riesgos asociados a los mismos, incluyendo diabetes, diabetes mellitus tipo 2 o Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID), hiperglicemia, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, enfermedad cardiovascular, hipertensión, arterioesclerosis, enfermedad coronaria de las arterias, infarto de miocardio, enfermedad vascular periférica, ictus, enfermedad tromboembólica, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, enfermedad de la vesícula biliar, osteoartritis, apnea del sueño, trastornos reproductivos como el síndrome ovárico poliquístico, y cáncer de mama, próstata o colon, comprendiendo el procedimiento la administración a un sujeto tal como un mamífero, incluyendo un humano, una dosis efectiva de PP2-36, como se describe aquí.

2. Hipersecreción intestinal

El PP es conocido por tener un fuerte efecto anti-secretorio tanto sobre el intestino delgado como sobre el grueso y esto aparenta estar mediado por los receptores Y4 ubicados en las células epitelianas (Cox & Tough 2001 Br.J.Pharmacol. 135: 1505-12). Se mostrado *in vivo* que la administración periférica de PYY – otra péptido del pliegue PP que activa los receptores Y1 e Y2 – puede causar una reducción duradera en la secreción intestinal inducida por polipéptido intestinal vasoactivo en sujetos humanos con ileostomías (Playford et al 1990 Lancet 335: 1555-57). Se concluyó con que el PYY podría ser un agente terapéutico contra la diarrea. Sin embargo, por ejemplo los efectos natriuréticos e hipertensivos de los agonistas Y1 e Y2 combinados, péptidos NPY y PYY han impedido esto. Tales efectos secundarios no serán relevantes para PP2-36. Así, PP2-36 es especialmente útil para el tratamiento o protección contra la hipersecreción del tracto GI incluyendo formas variadas de diarrea estén o no causadas por hipersecreción como una supresión de la secreción intestinal eliminará o bien la causa de la diarrea o bien los síntomas. Una indicación especialmente interesante es la hiper-secreción observada en pacientes con ileostomía, que, a menudo, pierden grandes cantidades de líquido. El PP2-36 es especialmente útil para el tratamiento o protección contra la hipersecreción asociada con ileostomía del intestino delgado.

Comentarios adicionales relativos a la administración de PP2-36 para el tratamiento o prevención de obesidad y enfermedades relacionadas

Durante una comida, una gran variedad de hormonas gastrointestinales y sistemas neurotransmisores se activan de una forma cuidadosamente coordinada, secuencial y superpuesta. Además, los componentes alimenticios influyen no sólo en la secreción de hormonas GI y la actividad de variados senderos neuronales aferentes sino que estos componentes alimenticios también influyen sobre variadas hormonas y centros del sistema nervioso central directamente después de ser absorbidos. Así, la regulación de la ingesta de alimentos y consumo de energía es un proceso altamente complejo y con múltiples facetas. A la vista de esto, es sorprendente que ciertas hormonas tales como el PP, de hecho, pueden afectar sustancialmente al sistema cuando son administradas en una forma que resulte en, por ejemplo, sólo 3-4 veces los niveles de plasma que se alcanzan durante una comida.

La administración del agonista PP2-36 tiene, principalmente, y de forma aparente, el efecto buscado si el compuesto es administrado en ayunas en una dosis efectiva según lo descrito. Si el agonista es suministrado en una situación donde los sistemas hormonales y neuronales variados son activos debido a la presencia de componentes alimenticios en el tracto GI o la expectación de una comida, el efecto no es visto o se observa un efecto menor. Así, el agonista Y4 selectivo es administrado preferiblemente en ayunas en una dosis efectiva o bien en forma subcutánea, nasal o a través de otros medios como se describe aquí. En el presente contexto, el término “en ayunas” significa que el sujeto no ha comido ninguna comida o bebida dentro de al menos las últimas 2 horas antes de la administración del agonista receptor Y2, tal como, por ejemplo, dentro de, al menos, las últimas tres horas, dentro de al menos las últimas cuatro horas, dentro de al menos las últimas cinco horas, dentro de al menos las últimas seis horas, dentro de al menos las últimas siete horas, dentro de al menos las últimas ocho horas, dentro de al menos las últimas nueve horas, dentro de al menos las últimas diez horas, dentro de al menos las últimas once horas o dentro de al menos las últimas doce horas antes de la dosificación.

En un subgrupo de la población, el PP2-36 puede no tener la acción pretendida debido a variaciones genéticas tales como polimorfismos del gen receptor Y4. La pérdida de función por mutaciones en estos receptores puede probablemente asociarse con la obesidad. Así, en una realización preferida de la invención, un análisis del gen Y4 del sujeto que va a ser tratado se lleva a cabo con objeto de investigar los polimorfismos/mutaciones en estos genes y la identificación de tales polimorfismos. Un tratamiento óptimo de los sujetos puede ser realizado basándose en tal análisis. Por ejemplo, sólo los sujetos con genotipo normal o con polimorfismos, que no afecten la función del agonista Y4, deberían ser tratados con PP2-36. Otra posibilidad es incrementar la dosis de PP2-36 en sujetos que expresan un receptor con anomalías con objeto de asegurar un efecto óptimo de la droga. En el caso en el que la obesidad de un sujeto esté causada por una anomalía en la función del receptor Y4, se podría argumentar que el tratamiento con – por ejemplo – grandes dosis de PP2-36 es una forma de terapia de reemplazo – siempre que se haya dejado fuera al menos alguna de las funciones relevantes del receptor – por ejemplo en pacientes heterocigóticos.

Un análisis agudo puede ser llevado a cabo donde PP2-36 se administra para asegurar que tiene el efecto pretendido en el sujeto que va a ser tratado antes que se inicie un tratamiento crónico. Por vía de estos medios, se asegura que sólo los sujetos que sean susceptibles al tratamiento con PP2-36 son tratados con el compuesto.

El PP2-36 puede ser combinado en el tratamiento de la obesidad, diabetes y enfermedades relacionadas con el uso de diversas otras drogas dirigidas al apetito y consumo de energía. Esto incluye, pero no está limitado, a drogas tales como inhibidores de la lipasa del tracto GI, inhibidores de la recaptación de neurotransmisores, antagonistas de receptores del cannabis, y agonistas inversos, además de otros tipos de neurotransmisores – incluyendo pero no limitados a receptores 5HT – y/o hormonas – incluyendo pero no limitados a agonistas receptores o antagonistas GLP-1, MC4, MC3. Debido al hecho de que el agonista selectivo Y4 tiene por objeto un mecanismo regulatorio homeostático en la comunicación entre el tracto GI y el Sistema Nervioso Central – esto es, los receptores Y4 que son normalmente el objeto de la saciedad mediante la hormona PP del páncreas- es especialmente beneficioso combinar el tratamiento con PP2-36 con el tratamiento con una droga que tenga por objeto un mecanismo central, hedónico en la regulación del apetito y consumo de energía, tales como los receptores CB1, por ejemplo siendo parte del sistema de recompensa.

Dosis

La cantidad terapéuticamente efectiva de PP2-36 dependerá de la edad, peso y afección del sujeto que está siendo tratado, la severidad y tipo de la afección o enfermedad que está siendo tratada, la forma de administración y la fuerza de la composición que se aplica.

Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva de PP2-36 puede variar de alrededor 0.01 µg por kilogramo (kg) de peso corporal a alrededor de 1 g por kg de peso corporal, tal como alrededor de 1 µg a alrededor de 5 mg por kg de peso corporal, o alrededor de 5 µg a alrededor de 1 mg por kg de peso corporal. En otra realización, el PP2-36 es administrado a un sujeto a 0.5 hasta 135 picomoles (pmol) por kilogramo de peso corporal, o alrededor de 72 pmol por kg de peso corporal.

En un ejemplo específico, no limitativo, se administran de alrededor de 5 a alrededor de 50 nmol como una inyección subcutánea, tal como de alrededor de 2 a alrededor de 20 nmol, o alrededor de 1.0 nmol se administra como una inyección subcutánea. La dosis exacta es prontamente determinada por un experto en la materia basado en la potencia del compuesto específico (tal como el agonista receptor) utilizado, la edad, peso, sexo y condición fisiológica del sujeto. La dosis de un agonista puede ser un equivalente molar de la dosis terapéuticamente efectiva de PYY3-36.

Las cantidades pueden ser divididas en una o varias dosis para administración diaria, cada segundo día, semanal, cada dos semanas, mensual o con cualquier otra frecuencia adecuada. Normalmente, la administración es una o dos veces diarias.

Procedimientos de administración

5 PP2-36 además de composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden ser administradas por cualquier vía, incluyendo la vía enteral (por ejemplo, administración oral) o parenteral. En una realización específica, la vía parenteral es la preferida e incluye inyección intravenosa, intraarticular, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intrasternal e infusión, además de administración por vía sublingual, transdérmica, tópica, transmucosa, incluyendo la vía nasal, por inhalación, por ejemplo, inhalación pulmonar. En realizaciones específicas, se prefiere la vía de administración subcutánea y/o nasal.

10 Cuando es administrado centralmente, el péptido PP selectivo Y4 natural puede, como lo hacen NPY y PYY cuando se ha administrado ICV, inducir a comer (probablemente debido a la activación de receptores centrales a los que normalmente no llegan las hormonas circulantes o los compuestos de péptidos administrados periféricamente). Así, en casos donde el apetito incrementado, se prefiere que PP2-36 sea administrado periféricamente.

15 Los PP2-36 pueden ser administrados como tales dispersados en un vehículo adecuado o pueden ser administrados en forma de una composición farmacéutica adecuada. Tales composiciones están también dentro del ámbito de la invención. En lo siguiente, se describen composiciones farmacéuticas adecuadas.

Composiciones farmacéuticas

20 El PP2-36 para uso en medicina es presentado normalmente en forma de una composición farmacéutica que comprende PP2-36 conjuntamente con uno o más excipientes fisiológica o farmacéuticamente aceptables.

25 El PP2-36 puede ser administrado a una animal incluyendo un mamífero tal como, por ejemplo, un humano, por cualquier ruta de administración adecuada como, por ejemplo, la ruta oral, bucal, nasal, ocular, pulmonar, tópica, transdérmica, vaginal, rectal, ocular, parenteral (incluyendo entre otros, subcutánea, intramuscular, e intravenosa, ver *supra*), en una dosis que sea efectiva para los fines individuales. Un experto en la materia sabrá cómo elegir una vía de administración adecuada. Como se mencionó *supra*, la vía de administración parenteral es la preferida. En una realización específica, el agonista receptor se administra subcutáneamente y/o nasalmente. Es notoriamente conocido en el estado de la técnica que las inyecciones subcutáneas pueden ser fácilmente autoadministradas.

30 Una composición adecuada para una vía de administración específica es fácilmente determinada por un profesional sanitario para cada paciente individual. Diversos portadores farmacéuticamente aceptables y su formulación se describen en tratados de formulación normalizados, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, por E.W. Martin.

35 Las composiciones farmacéuticas que comprenden PP2-36 pueden tener la forma de una composición sólida, semisólida o líquida. Para uso parenteral, la composición tiene normalmente una forma líquida o una forma semisólida o sólida para su implantación.

40 Las composiciones líquidas, que son soluciones o dispersiones estériles pueden ser utilizadas por, por ejemplo, inyección intravenosa, intramuscular, intratecal, epidural, intraperitoneal o subcutánea o por infusión. El PP2-36 puede ser también preparado como una composición sólida estéril, que puede ser disuelta o dispersada antes o al tiempo de su administración usando, por ejemplo, agua destilada, solución salina u otro medio inyectable estéril apropiado.

45 La forma líquida de la composición puede ser una solución, una emulsión que contenga nano-emulsiones, una suspensión, una dispersión, una composición liposómica, una mezcla, un pulverizador, o un aerosol (los dos últimos tipos son especialmente relevantes para administración nasal).

50 Los medios adecuados para soluciones o dispersiones se basan normalmente en agua o solventes farmacéuticamente aceptables, como por ejemplo, un aceite (por ejemplo, aceite de sésamo o de cacahuete) o un solvente orgánico como, por ejemplo, propanol o isopropanol. Una composición acorde con la invención puede comprender ulteriores excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como, por ejemplo, agentes ajustadores de pH, agentes osmóticamente activos, por ejemplo, con objeto de ajustar la isotonicidad de la composición a niveles fisiológicamente aceptables, agentes ajustadores de la viscosidad, agentes suspensivos, emulsificadores, estabilizadores, conservantes, antioxidantes, etc. Un medio preferido es el agua.

55 Las composiciones para administración nasal pueden también contener portadores no irritantes adecuados, como, por ejemplo, glicoles de polietileno, glicofurol, etc., además de reforzadores de la absorción bien conocidos por el experto en la materia (por ejemplo, con referencia a *Remington's Pharmaceutical Sciences*).

60 Para administración parenteral, en una realización, el PP2-36 puede ser formulado generalmente mezclándolo en el grado deseado de pureza, en una forma inyectable de dosificación unitaria (solución, suspensión o emulsión), con un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable, esto es, uno que no sea tóxico a receptores en las dosificaciones y concentraciones utilizadas y es compatible con otros ingredientes de la composición.

Generalmente, las formulaciones son preparadas contactando PP2-36 uniforme e íntimamente con portadores líquidos o portadores sólidos sutilmente divididos o ambos. Entonces, si es necesario, al producto se le da forma en la formulación deseada. Preferiblemente, el portador es un portador parenteral, más preferiblemente una solución que es isotónica con la sangre del receptor. Ejemplos de tales portadores incluyen agua, solución salina, solución de Ringer, y solución de dextrosa. Los portadores no acuosos como aceites fijos y etiloleato son también útiles aquí, además de liposomas. Debido a la naturaleza anfifática de los péptidos descritos aquí, otras formas adecuadas incluyen también formulaciones micelares, liposomas y otros tipos de formulaciones que comprenden uno o más lípidos adecuados, tales como, por ejemplo, fosfolípidos y similares.

Preferentemente, se suspenden en un portador acuoso, por ejemplo, en una solución amortiguada isotónica en un pH de alrededor de 8.0, preferiblemente a un pH de alrededor de 3.5 a alrededor de 7.4, 3.5 a 6.0, ó 3.5 a alrededor de 5. Las sustancias amortiguadoras útiles incluyen acetato, citrato, fosfato, borato, carbonato, tales como, por ejemplo, amortiguadores de ácido citrato-cítrico de sodio y de ácido fosfato-fosfórico de sodio, y de ácido acetato/acético de sodio.

Las composiciones pueden estar diseñadas para una liberación controlada o prolongada del agonista receptor después de la administración con objeto de obtener un régimen de administración menos frecuente. Normalmente, un régimen de dosificación incluyendo 1-2 administraciones diarias es considerado como adecuado, pero dentro del ámbito de la presente invención se incluye también otros regímenes de administración, como, por ejemplo, de más frecuencia y de menos frecuencia. Con objeto de conseguir una liberación prolongada de PP2-36, un portador adecuado, incluyendo, por ejemplo, lípidos o aceites, puede ser utilizado con objeto de formar un depósito en la zona de administración desde la cual PP2-36 es liberado lentamente en el sistema circulatorio, o puede ser usado un implante. Las composiciones adecuadas a este respecto incluyen liposomas y partículas biodegradables a las cuales el PP2-36 ha sido incorporado.

En estas situaciones, donde se requieren composiciones sólidas, la composición sólida puede ser en forma de tabletas tales como, por ejemplo, tabletas convencionales, tabletas efervescentes, tabletas recubiertas, tabletas fundidas o tabletas sublinguales, bolitas, polvos, gránulos, granulados, material en partículas, dispersiones sólidas o soluciones sólidas.

Una forma semi – sólida de la composición puede ser una goma de mascar, un ungüento, una crema, un linimento, una pasta, un gel o un hidrogel.

Otras formas de dosificación adecuadas de las composiciones farmacéuticas de acuerdo a la invención pueden ser vagitorios, supositorios, tiritas, parches, tabletas, cápsulas, saquitos, troches, dispositivos, etc.

La forma de dosificación puede ser diseñada para liberar PP2-36 libremente o de forma controlada, por ejemplo, con respecto a tabletas por revestimientos adecuados.

La composición farmacéutica puede comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de PP2-36.

El contenido de PP2-36 en una composición farmacéutica de la invención es, por ejemplo, de alrededor de 0.1 a alrededor de 100 % por peso de la composición farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser preparadas por cualquiera de los procedimientos conocidos por un experto en formulación farmacéutica.

En composiciones farmacéuticas, PP2-36 es normalmente combinado con un excipiente farmacéutico, esto es una sustancia o portador terapéuticamente inerte.

El portador puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la dosificación deseada y vía de administración.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser, por ejemplo, masillas, endurecedores, estimuladores de la desintegración, diluyentes, deslizantes, solventes, agentes emulsificadores, agentes suspensores, estabilizadores, fortalecedores, aromas, colores, agentes ajustadores del pH, agentes retardadores, agentes humidificadores, agentes activos de superficie, conservantes, antioxidantes, etc. Pueden encontrarse detalles en manuales farmacéuticos como, por ejemplo en *Remington's Pharmaceutical Sciences* o en el *Pharmaceutical Excipient Handbook*.

Síntesis

El PP2-36 puede ser sintetizado por síntesis de péptido de fase sólida, usando o bien un sintetizador de péptido automática, o síntesis de banco tradicional. El soporte sólido puede ser, por ejemplo, clorotritilo (Cl) o resina Wang (OH), estando ambos disponibles en el mercado. Los grupos activos de estas resinas reaccionan inmediatamente con el grupo carboxilo de un amino ácido N-Fmoc, en consecuencia enlazándolo covalentemente al

polímero. La amina enlazada a la resina puede ser desprotegida por exposición a piperidina. Un segundo aminoácido N-prottegido puede ser entonces acoplado al aminoácido – resina. Estas fases se repiten hasta que se obtiene la secuencia deseada. Al final de la síntesis, el péptido protegido enlazado a resina puede ser desprotegido y separado de la resina con ácido trifluoracético (ATF). Ejemplos de reagentes que facilitan el acoplamiento de nuevos aminoácidos a la cadena de aminoácidos enlazados a la resina son: hexafluorofosfato tetra-metiluronio (HATU), hexafluorofosfato O-(1H-benzotriazola-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluorborato O-(1H-benzotriazola-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU), 1H-hidroxibenzotriazola (HOBt).

La síntesis de péptidos por química de solución más que por química de fase sólida es también factible.

PP2-36 fue hecho por síntesis de fase sólida, sobre resina PALPeg-PS, (amida resina (amide resin Applied Bioscience, Warrington, UK GEN913401), usando química Fmoc con un exceso de 5x reagente. El acoplamiento fue llevado a cabo por HCTU por todas partes, siendo DMF el solvente. La eliminación de Fmoc fue llevada a cabo con 20 % de piperidina en DMF, 10-15 minutos. Sin embargo, el péptido podría simplemente ser también sintetizado por diversos otros procedimientos normalizados de síntesis de péptidos tales como química tBOC y química de solución en lugar de estado sólido, etc. La síntesis se ilustra por la siguiente descripción, pero PP2-36 fue hecho por procedimientos similares:

Síntesis Ilustrativa de [Cis2, D-Cis27]PP (IDENTIFICACION SECUENCIAL Nº: 4)

En la protección de grupo lateral general hubo Fmoc normalizado excepto en:

Arg = Fmoc Arg(Pbf) –OH

Asn, Gln = Fmoc Asn(Trt)-OH

Thr, Ser, Asp, Glu, Tir = tButil

Ala-Ser 22-23 = Fmoc AlaSer pseudoprolina

En el caso de [Cis2, D-Cis27]PP, fueron usados los siguientes grupos de protección especial con objeto de obtener desprotección selectiva:

Cis 27 = Fmoc DLis(Trt) –OH

El péptido fue sintetizado por síntesis de fase sólida, sobre resina PAL Peg-PS (una resina que generará el grupo carboxiamida, biológicamente importante, por división), usando química Fmoc con exceso de reagente molar de pliegue 5. El acoplamiento fue llevado a cabo por HCTU por todas partes, usando DMF como solvente. La eliminación de Fmoc después de que cada fase de acoplamiento fuera llevada a cabo con 20 % de piperidina en DMF durante 10-15 minutos. El acoplamiento fue comprobado después de cada etapa por ensayo de ninhidrina cuantitativa. En ciertos casos, pudieron ser llevados a cabo acoplamientos dobles.

La resina fue, subsiguientemente, dividida en diferentes lotes para generar el péptido.

Estructura	Fórmula molecular	Mw	m/z teórico	m/z de masa medida	Tiempo de reacción en minutos	% de pureza	Procedimiento Analítico
PP2-36	C182H282N5 205352	4110.7		4109.2	18.1	96.2	C
[Cis2, D-Cis27]PP	C177H279N5 305354	4125.8		4124.4	17.9	98.7	C

Procedimiento C HPLC Analítico

Columna = Vydac C18 218TP54, 250 x 4.6 mm

Amortiguador A = 20 mL de MeCN y 2 mL de ATF en Agua (Volumen Total 2000 mL)

Amortiguador B = 2 mL de ATF en Agua (Volumen total de 2000 mL)

Gradiente = 25 % B a 75 % sobre 27 minutos

Índice de flujo = 1.00 mL/min

Longitud de onda = 215 nm

Volumen de inyección = 10 µL

Ensayos Biológicos y resultados

5

I. ENSAYOS IN VITRO PARA DETERMINAR LA AFINIDAD Y POTENCIA DE PÉPTIDOS

Ensayo de Afinidad de receptor Y2 Humano

10

La afinidad de compuestos de análisis para el receptor Y2 humano se determina en un análisis de enlazado de competición usando enlazado 125I-PYY en células COS-7 transferidas fugazmente con el receptor Y2 humano usando un procedimiento normalizado de transferencia de fosfato de calcio.

15

Las células COS-7 transferidas se transfieren a placas de cultivo un día después de la transferencia en una densidad de 40×10^3 células por pocillo buscando un enlace de 5 – 8 % del enlazante radioactivo. Dos días después de la transferencia, los experimentos de enlazado competitivo se llevan a cabo durante 3 horas a 4 C° usando 25 pM de 125I-PYY (Amersham, Little Chalfont, UK). Los ensayos de enlace se llevan a cabo en 0.5 ml de un amortiguador Hepes de 50 mM, pH 7.4, complementado con 1 mM de CaCl₂, 5 mM MgCl₂, y 0.1 % (w/v) de albumina de suero bovino y 100 µg/ml de bacitracina. Se determina un enlace no específico como enlace en presencia de 1 µM de PYY no marcado. Las células son lavadas dos veces en 0.5 ml de amortiguador helado y 0.5-1 ml de amortiguador lítico (8 M Urea, 2 % NP40 en 3 M de ácido acético) se añade y la radioactividad asociada se mide en un contador gamma. Las determinaciones se hacen por duplicado. El enlace de estado fijo se alcanza con el enlazador radioactivo bajo estas condiciones. Los valores EC₅₀ fueron calculados usando una programación de manejo de datos farmacológicos normalizada, Prism 3.0 (graphPad software, San Diego, Estados Unidos).

20

25

Análisis de afinidad del receptor Y4 Humano

El protocolo para el análisis de afinidad Y2, excepto en que se usan células COS-7 Y4-transformadas humanas, el análisis de competencia usa 125I-PP, y se usa PP para la determinación de enlazado no específico.

30

35

Análisis de afinidad del receptor Y1 Humano

El protocolo para el análisis de afinidad Y2, excepto en que se usan células COS-7 Y1-transformadas humanas y son transferidas a placas de cultivo en una densidad de 1.5×10^6 células por pocillo, el análisis de competencia usa 125I-PP, y se usa NPY para la determinación de enlazado no específico.

40

Análisis de afinidad del receptor Y5 Humano

El protocolo para el análisis de afinidad Y2, excepto en que se usan células COS-7 Y5-transformadas humanas y son transferidas a placas de cultivo en una densidad de 5×10^5 células por pocillo, el análisis de competencia usa 125I-PP, y se usa NPY para la determinación de enlazado no específico.

45

Los resultados de analizar NPY, PYY, PYY3-36, PP y PP2-36 en los análisis de afinidad *supra* se dan en la Tabla 1:

50

55

60

65

Tabla 1

Agonista	Y2			Y1			Y4		
	IC50 Nm	SEM	N	IC50 nm	SEM	N	IC50 Nm	SEM	n
NPY	0.30	0.07	4	2.3	0.3	4	26	5	4
PYY	0.22	0.02	2	16	1	2	30	8	2
PYY(3-36)	0.20	0.03	10	>1000		2	343	42	4
PP	>1000		4	>1000		1	0.41	0.05	11
PP2-26	>1000		3	>1000		2	0.64	0.04	4

5

Análisis de potencia del receptor Y2 Humano

La potencia de los compuestos de análisis del receptor Y2 humano se determina por llevar a cabo experimentos que responden a dosis en células COS-7 transitoriamente transfectadas con el receptor Y2 humano además de una proteína G promiscua, Gq α 5, que asegura que las parejas receptoras Y2 a través de un sendero Gq que llevaba a un incremento del volumen del fosfato inositol.

10

Volumen de Fosfatidilinositol – Un día después de la transfección, se incuban células COS-7 durante 24 horas con 5 μ Ci de [3H]-mio-inositol (Amersham, PT6-271) en 1 ml de medio suplementado con 10 % de suero de ternero fetal, 2 mM de glutamina y 0.01 mg/ml de gentamicina por pocillo. Las células son lavadas dos veces en amortiguador, 20 mM HEPES, pH 7.4, complementado con 140 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgSO $_4$, 1 mM CaCl $_2$, 10 mM de glucosa, 0.05 % (w/v) de suero bovino; y son incubados en 0.5 ml de amortiguador complementado con 10 mM de LiCl a 37° C durante 30 minutos. Después de la estimulación con diversas concentraciones de péptido durante 45 minutos a 37° C, las células son extraídas con 10 % de ácido perclórico helado seguido por incubación sobre hielo durante 30 min. Los flotantes resultantes son neutralizados con KOH en amortiguador HEPES, y el fosfato [3H]-inositol generado son purificados en resina de intercambio de anión Bio-Rad AG 1-X8 y medido en un contador beta. Las determinaciones son hechas en duplicados. Los valores EC50 fueron calculados usando una programación de manejo de datos farmacológicos normalizada, Prism 3.0 (graphPad Software, San Diego, Estados Unidos).

15

20

25

Análisis de potencia del receptor Y4 Humano

El protocolo es idéntico para el análisis de potencia Y2, excepto en que se usan células COS-7 Y4-transformadas humanas.

30

Análisis de potencia del receptor Y1 Humano

El protocolo es idéntico para el análisis de potencia Y2, excepto en que se usan células COS-7 Y1-transformadas humanas.

35

Análisis de potencia del receptor Y5 Humano

El protocolo es idéntico para el análisis de potencia Y2, excepto en que se usan células COS-7 Y5-transformadas humanas.

40

Los resultados de analizar NPY, PYY, PYY3-36, PP y PP2-36 en los análisis de afinidad *supra* se dan en la Tabla 2:

45

Tabla 2

Agonista	Y2			Y1			Y4		
	EC50 Nm	SEM	N	EC50 nm	SEM	N	EC50 Nm	SEM	n
NPY	1.5	0.5	11	1.7	0.4	11	167	56	7
PYY	0.23	0.06	8	0.6	0.1	5	34	5	6
PYY(3-36)	0.36	0.07	16	74	5	7	>1000		8
PP	>1000		8	83	13	5	0.64	0.07	17
PP2-26	>1000		4	297	45	3	0.88	0.12	5

II. ANALISIS IN VITRO PARA DETERMINAR LA ESTABILIDAD PROTEÍNICA

Una importante medición para el PP2-36 es la estabilidad proteínica, especialmente en cuanto a la estabilidad, por ejemplo, hacia la degradación por enzimas en cuanto el péptido ha sido diseñado para tener una estabilidad incrementada en comparación a, por ejemplo, PYY3-36 o incluso estabilidad incrementada en comparación a PYY y PP de longitud íntegra.

Estabilidad del pliegue PP- se determinó como la estabilidad del péptido hacia la degradación por endopeptidasas con adherencia, por ejemplo, en la zona de bucle, que es relativamente flexible como se describió (O'Hare, M. & Schwartz, T.W. 1990 In Degradation of Bioactive Substances: Physiology and Pathophysiology. J.Henriksen, ed. CRC Press, Boca Raton, FL.). Como una enzima modelo, se usa endoproteinasa Asp-N (Pierce). Esta enzima se adhiere al lado N-terminal de los residuos Asp, por ejemplo entre los residuos 9 y 10 (Asp) en PP. El péptido se incubó con una dosis eficaz de endopeptidasa Asp-N como se indicó por el fabricante en amortiguador 0.01 M Tris/HCl, pH 7.5 a temperatura ambiente y se eliminaron muestras después de varios períodos de tiempo de sobre 24 horas. Las muestras son analizadas por HPLC y la degradación gradual del péptido sigue en el tiempo. El péptido se compara con relación a la estabilidad con PYY, PYY13-36 y PP.

Estabilidad hacia las aminopeptidasas.- Se determinó como se describió supra para endopeptidasas pero usando la aminopeptidasa N y di-peptidilpeptidasa IV en su lugar. Los péptidos se comparan con relación de estabilidad con PYY, PYY3-36 y PP.

III. ESTUDIOS IN VIVO PARA DETERMINAR EL EFECTO DE PP2-36 SOBRE EL APETITO, INGESTION DE ALIMENTO Y PESO CORPORAL

Efecto de PP2-36 sobre ingestión alimenticia aguda en ratones

Se usó la cepa ddy de ratones, de 34-37 grs. y de 8-9 semanas de edad (Japón SLC, Shizuoka, Japón). Los ratones fueron alojados individualmente en un ambiente regulado (22 C, 55 % de humedad) en un ciclo luz – oscuridad de 12 horas con luz a las 7 AM. La comida y el agua estaban disponibles ad libitum excepto justo antes de los experimentos (ver *infra*). Los ratones fueron acostumbrados a inyecciones subcutáneas durante la semana anterior al inicio de los experimentos. En los experimentos, se usó cada vez un ratón. Inmediatamente antes de su administración, los péptidos fueron diluidos en solución salina fisiológica y administrados en 100 µL de volumen por administración subcutánea. Los resultados se expresan como promedio +/- SE. Se usó el análisis de variación seguido por análisis de Bonferroni para estimar la diferencia entre grupos.

Los ratones fueron privados de comida pero con libre acceso a agua durante las 16 horas previas al análisis y los experimentos fueron iniciados a las 10 AM del día siguiente. Fue usada una dieta normalizada (CLEA Japan, Inc., Tokyo, Japan) y la ingesta de comida fue medida por la resta del alimento no ingerido del alimento previamente medido después de la administración y comprobación del vertido de alimento. Ocho animales en cada grupo recibiendo o bien solución salina, 1 µg PP2-36, ó 10 µg de PP2-36 de compuesto del test.

Los resultados para PP2-36 (Número de Identificación Secuencial: 10) como compuesto del test se muestran en la Figura 2.

5

SECUENCIAS

NPY (Número de identificación secuencial: 1)

10

H₂N-Tyr--Pro-Ser-Lys-Pro-Asp-Asn-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Pro-Ala-Glu-Asp-Met-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-CONH₂

PYY (Número de identificación secuencial: 2)

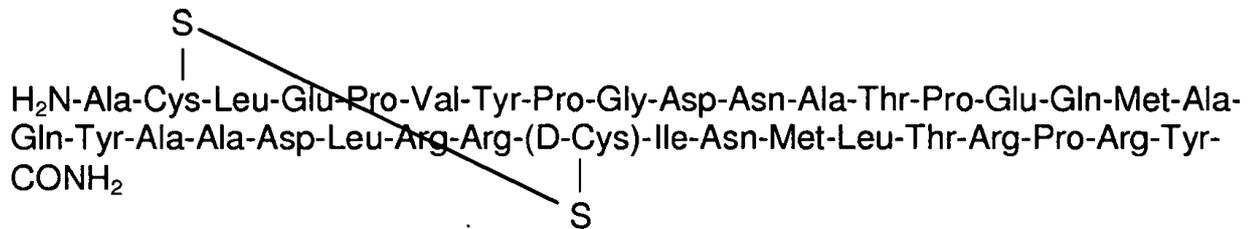
H₂N-Tyr-Pro-Ile-Lys-Pro-Glu-Ala-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Ser-Pro-Glu-Glu-Leu-Asn-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-CONH₂

PP (Número de identificación secuencial: 3)

15

H₂N-Ala-Pro-Leu-Glu-Pro-Val-Tyr-Pro-Gly-Asp-Asn-Ala-Thr-Pro-Glu-Gln-Met-Ala-Gln-Tyr-Ala-Ala-Asp-Leu-Arg-Arg-Tyr-Ile-Asn-Met-Leu-Thr-Arg-Pro-Arg-Tyr-CONH₂

[Cis2, DCis27]-PP (Número de identificación secuencial: 4)



PP2-36 (Número de identificación secuencial: 10)

20

H₂N-Pro-Leu-Glu-Pro-Val-Tyr-Pro-Gly-Asp-Asn-Ala-Thr-Pro-Glu-Gln-Met-Ala-Gln-Tyr-Ala-Ala-Asp-Leu-Arg-Arg-Tyr-Ile-Asn-Met-Leu-Thr-Arg-Pro-Arg-Tyr-CONH₂

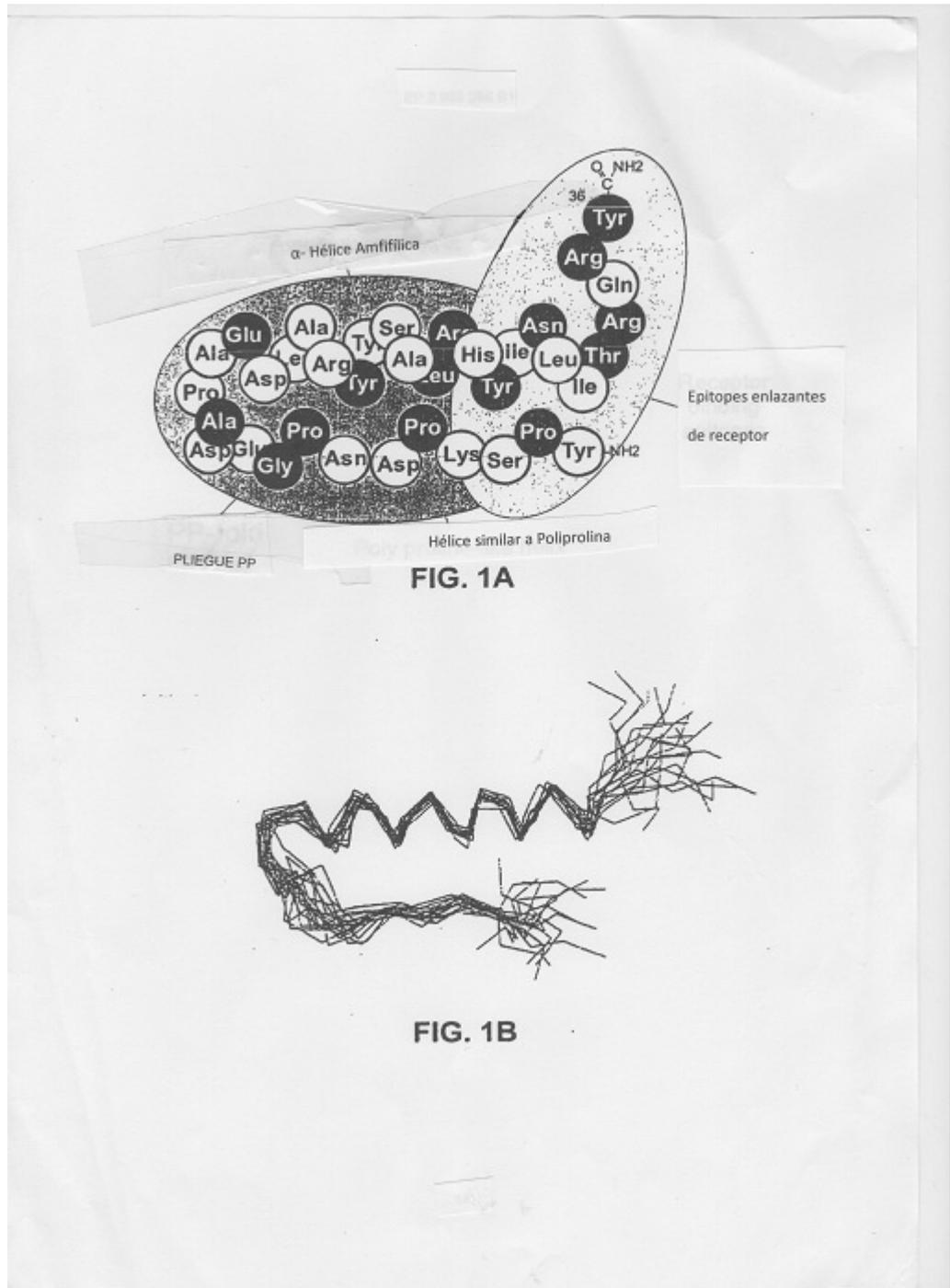
25

30

35

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de un agonista receptor Y para para el receptor Y4 sobre los receptores Y1 e Y2,
siendo dicho agonista receptor Y un péptido pancreático PP2-36 con Número de Identificación Secuencial: 10, en la
preparación de una composición para (i) reducir la ingesta de alimento, (ii) tratamiento de obesidad o sobrepeso, (iii)
tratamiento de la diarrea o hipersecreción asociada con pequeña ileo-stomia intestinal ó (iv) tratamiento de una
10 afección en la que la obesidad o el sobrepeso se consideren un factor que contribuya, seleccionada de entre bulimia,
bulimia nerviosa, Síndrome X (síndrome metabólico), diabetes, diabetes mellitus tipo 2 o diabetes mellitos no
insulino-dependiente (DMNID), hiperglicemia, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, enfermedad
cardiovascular, hipertensión, arteriosclerosis, enfermedad coronaria de las arterias, infarto de miocardio,
enfermedad vascular periférica, ictus, enfermedad tromboembólica, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, enfermedad
de la vesícula biliar, osteoartritis, apnea del sueño, síndrome ovárico poliquístico, y cáncer de mama, próstata o
15 colon.
2. El uso del péptido pancreático PP2-36 con Número de Identificación Secuencial: 10, en la
preparación de una composición para reducir la ingesta de alimento.
- 20 3. El uso de un agonista receptor Y para para el receptor Y4 sobre los receptores Y1 e Y2,
siendo dicho agonista receptor Y un péptido pancreático PP2-36 con Número de Identificación
Secuencial: 10, en la preparación de una composición para el tratamiento de la diarrea o
hipersecreción asociada con pequeña ileo-stomia intestinal.
- 25 4. El uso reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la composición se
adapta para su administración a un paciente por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa,
nasal, transdérmica o bucal.
- 30
- 35
- 40
- 45



5

10

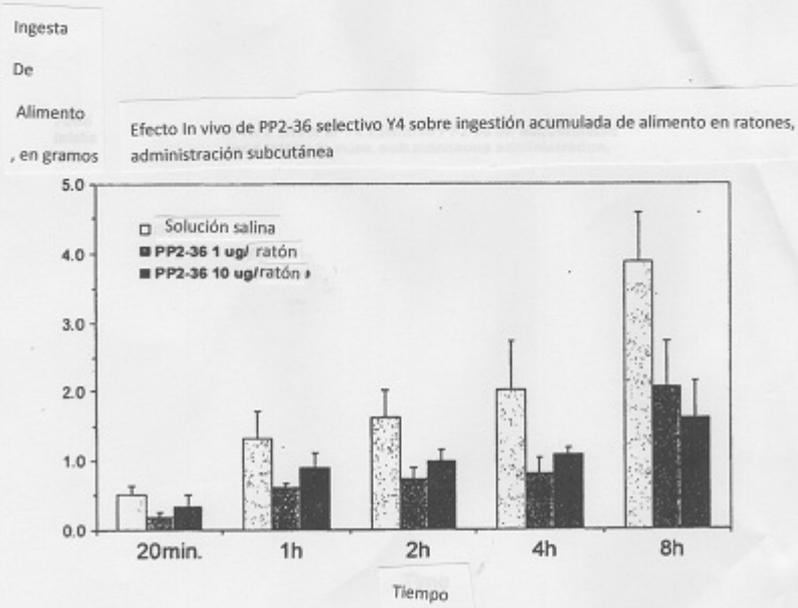


FIG. 2.

5

10