

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 481**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/22** (2006.01)  
**A61K 38/26** (2006.01)  
**C07K 14/575** (2006.01)  
**C07K 14/605** (2006.01)  
**A61P 5/24** (2006.01)  
**A61P 15/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03703804 .9**  
96 Fecha de presentación: **14.01.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1523325**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.04.2005**

54 Título: **MÉTODOS Y COMPOSICIONES PARA EL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO.**

30 Prioridad:  
**22.01.2002 US 350395 P**  
**11.12.2002 US 317126**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**20.01.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**20.01.2012**

73 Titular/es:  
**AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.**  
**9360 TOWNE CENTRE DRIVE**  
**SAN DIEGO, CA 92121, US**

72 Inventor/es:  
**HATHAWAY, David, R.**

74 Agente: **Manresa Val, Manuel**

ES 2 372 481 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

Métodos y composiciones para el tratamiento del síndrome de ovario poliquístico.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la endocrinología y a la farmacología. Más particularmente, se refiere a composiciones para utilizar en el tratamiento de personas que padecen poliquistosis ovárica (PCOS).

10 Antecedentes de la invención

La poliquistosis ovárica (PCOS), conocida asimismo como enfermedad poliquística ovárica o síndrome de Stein-Leventhal, afecta entre un 6 y un 10% estimado de las mujeres en los Estados Unidos. La PCOS se caracteriza por la anovulación (períodos menstruales irregulares o ausentes) e hiperandrogenismo (testosterona sérica y androstenediona). Otros síntomas causales y clínicos de esta enfermedad pueden comprender alteraciones en la metrorragia, hipertrofia de los ovarios multifoliculares, esterilidad, obesidad, resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hipertensión, hiperlipidemia, diabetes mellitus de tipo 2, un exceso de crecimiento del vello facial, pérdida de cabello y acné.

La resistencia insulínica y la hiperinsulinemia resultan muy frecuentes en las pacientes con PCOS y se considera que son causantes de la fisiopatología de esta enfermedad (Udoff, L., y otros., Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 7:340-343 (1995); Barbieri, R.L., Am. J. Obstet. Gynecol. 183:1412-8 (2000); Kim, L.H. y otros., Fertility and Sterility 73: 1097-1098 (2000); luorno, M.J. y otros., Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 28:153-164 (2001); Zacur, H.Z., Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 28:21-33 (2001)). Los estudios recientes indican que el hiperandrogenismo asociado a la PCOS lo provoca un aumento de la producción ovárica de andrógenos (por ejemplo, la testosterona y la androstenediona) y una disminución en la concentración sérica de la globulina de unión con los andrógenos, debido a la hiperinsulinemia. Se ha demostrado que la insulina estimula directamente la producción de andrógenos por parte del ovario, al menos en parte por el aumento de la actividad de la P450c17, un enzima implicado en la producción de testosterona en las células teca del ovario (luorno, MJ y otros., Supra). En el nivel del eje hipofisario, el hiperandrogenismo inhibe la folitropina (FSH), altera la liberación de la gonadoliberina (GnRH) y aumenta la liberación de la lutropina (LH). Dichas alteraciones, junto con los efectos locales de los andrógenos en los ovarios, provocan la involución folicular, la anovulación y esterilidad. Del mismo modo, se producen la oligomenorrea y la amenorrea y se intercalan con hemorragias vaginales abundantes. La hiperinsulinemia puede provocar asimismo hipertensión arterial y aumentar la formación de coágulos y se ha implicado en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, ictus y diabetes de tipo 2 (luorno, MJ y otros, supra; Zacur, HA, supra).

Habitualmente, el tratamiento de la PCOS se orientaba principalmente a corregir los síntomas subyacentes. Por ejemplo, el hirsutismo y las irregularidades menstruales se trataron con medicamentos antiandrogénicos, entre ellos los anticonceptivos orales, espironolactona, flutamida o finasterida. Los tratamientos contra la esterilidad han comprendido dietas de adelgazamiento, medicamentos para la ovulación (por ejemplo, el clomifeno, Follistim y Gonal-F), la denominada cirugía de "perforación ovárica" y la fecundación *in vitro*. Los tratamientos más recientes para la PCOS están orientados a reducir los niveles de insulina. Se ha demostrado que sustancias sensibilizantes a la insulina tales como la metformina, D-Chiro-inositol, diazóxido e inhibidores de la PPAR- $\gamma$  (por ejemplo, la troglitazona (Rezulin), rosiglitazona (Avandia) y pioglitazona (Actos)) restauran la fecundidad e invierten las alteraciones endocrinas asociadas a la PCOS. Aunque la metformina y los inhibidores de la PPAR- $\gamma$  no interfieren con el embarazo, por lo general se retiran durante el embarazo debido a la preocupación sobre su seguridad y el (los) efecto(s) en el feto. Además, las mujeres con PCOS experimentan abortos espontáneos durante el primer trimestre con un índice de hasta del 30% al 50% (luorno, M.J. y otros., supra; Zacur, H.A., supra; Phipps, W.R., Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 28:165-182 (2001)). Por lo tanto, existe la necesidad de composiciones y métodos nuevos y mejores para el tratamiento de la PCOS.

Resumen de la invención

Los presentes solicitantes han resuelto el problema anterior al descubrir que el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) puede reducir la resistencia insulínica o aumentar la sensibilidad a la insulina.

La presente invención proporciona una composición que comprende una molécula de GLP-1 seleccionada de entre GLP-1 (1-37) (SEC ID N.º: 1), GLP-1 (1-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 2), GLP-1 (7-37) (SEC ID N.º: 3), GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 4), exendina-3 (SEC ID N.º: 7), exendina-4 (SEC ID N.º: 9) o una variante biológicamente activa que presente más del 90% de identidad de la secuencia con respecto a cualquiera de las SEC ID 1 a 4, para utilizar en el tratamiento de una paciente que padece poliquistosis ovárica (PCOS) presentando la paciente por lo menos un síntoma indicativo de PCOS seleccionado de entre el grupo que comprende resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hipertensión, hiperlipidemia, anovulación u ovulación irregular, esterilidad, hiperandrogenismo, hirsutismo, alopecia, acné, hipertrofia de los ovarios multifoliculares, alteraciones en la metrorragia y abortos espontáneos.

65

Preferentemente, la composición se utiliza junto con una sustancia seleccionada de entre el grupo que comprende un fármaco para provocar la ovulación, un fármaco antiandrogénico, una sustancia sensibilizante de la insulina y glucosa.

5 En una forma de realización, el fármaco para provocar la ovulación se selecciona de entre el grupo que comprende clomifeno, Follistim y Gonal-F, el fármaco antiandrogénico se selecciona de entre el grupo que comprende una anticonceptivo oral, la espironolactona, flutamida y finasterida, o la sustancia sensibilizante de la insulina se selecciona de entre el grupo constituido por metformina, D-Chiro-inositol, diazóxido y un inhibidor de la PPAR.

10 En otra forma de realización, la sustancia es una sustancia sensibilizante de la insulina.

La presente invención proporciona asimismo una composición que comprende una molécula de GLP-1 seleccionada de entre GLP-1 (1-37) (SEC ID N.º: 1), GLP-1 (1-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 2), GLP-1 (7-37) (SEC ID N.º: 3), GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 4), exendina-3 (SEC ID N.º: 7), exendina-4 (SEC ID N.º: 9) o una variante biológicamente activa que presente más del 90% de identidad de la secuencia con respecto a cualquiera de las SEC ID 1 a 4, junto con un sustancia sensibilizante de la insulina, para utilizar en el tratamiento de una paciente que padece poliquistosis ovárica (PCOS) presentando la paciente por lo menos un síntoma indicativo de PCOS.

20 En una forma de realización, las pacientes presentan por lo menos un síntoma indicativo de PCOS seleccionado de entre el grupo que comprende resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hipertensión, hiperlipidemia, anovulación u ovulación irregular, esterilidad, hiperandrogenismo, hirsutismo, alopecia, acné, hipertrofia de los ovarios multifoliculares, alteraciones en la metrorragia y abortos espontáneos.

25 Preferentemente, la presente invención se refiere a tratamientos para reducir la resistencia insulínica, prevenir la aparición de la diabetes de tipo 2, restablecer la menstruación regular, restablecer la ovulación regular, restablecer la fecundidad o prevenir los abortos espontáneos en la paciente.

30 La presente invención describe el tratamiento de la PCOS utilizando el GLP-1. En una forma de realización, la presente invención describe la administración a una paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un GLP-1 específico. En otra forma de realización, la presente invención da a conocer la reducción o la prevención de la resistencia insulínica en una paciente que padece PCOS. En una forma de realización adicional, la presente invención de a conocer la prevención de la aparición de la diabetes de tipo 2 en una paciente que padece PCOS. En una forma de realización adicional, la presente invención se refiere al restablecimiento de la menstruación regular, la ovulación o la fecundidad en una paciente que padece PCOS.

35 En una forma de realización, la composición comprende GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub>, GLP-1 (9-36) NH<sub>2</sub>, GLP-1 (7-37), exendina-4 o exendina 3. En una forma de realización preferida, la composición comprende GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub>, GLP-1 (7-37) o exendina-4. Preferentemente, la composición comprende GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> o exendina-4. Más preferentemente, la composición comprende exendina-4. En otra forma de realización preferida, la paciente es un ser humano.

#### Descripción detallada de la invención

45 Excepto cuando se especifique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto ordinario en la materia al que pertenezca la presente invención. En caso de conflicto, gobernará la presente solicitud, comprendiendo las definiciones.

50 Aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria se pueden utilizar en la práctica de la presente invención, los métodos y materiales adecuados se describirán a continuación. Los materiales, métodos y ejemplos se proporcionan únicamente a título ilustrativo y no pretenden ser limitativos. Otras características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la descripción detallada y de las reivindicaciones.

55 A lo largo del presente documento, la palabra "comprenden" o variaciones tales como "comprende" o "comprendiendo" se entenderá que implican la inclusión de un número entero indicado o grupos de números enteros, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

60 A fin de definir mejor la presente invención, se proporcionan en la presente memoria los siguientes términos y definiciones.

65 El término "alopecia" tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno en el que un paciente experimenta la pérdida de cabello debido a, por ejemplo, infecciones del cuero cabelludo o de la piel, nerviosismo o una enfermedad específica tal como la PCOS. El cabello puede caerse irregularmente o se puede producir una pérdida difusa del cabello en vez de la calvicie total de una zona.

Los términos "GLP-1", "molécula de GLP-1", "péptido similar al glucagón-1", o "molécula de péptido similar al glucagón-1" según la presente invención se definen en la reivindicación 1.

5 El término "hirsutismo", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno en el que un paciente presenta alteraciones en la pilosidad.

El término "hiperandrogenismo", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno en el que un paciente presenta unos niveles elevados de andrógenos (por ejemplo, testosterona, androstenediona) en el suero.

10 El término "hiperinsulinemia", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno en el que un paciente presenta unos niveles elevados de insulina en plasma.

El término "hiperlipidemia", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno en el que un paciente presenta unas concentraciones plasmáticas elevadas de algunos lípidos particulares o de todos en general.

15 El término "hipertensión", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno en el que un paciente presenta una tensión arterial elevada persistente (es decir, una tensión arterial sistólica igual o superior a 140 mm Hg y una tensión arterial diastólica igual o superior a 90 mm Hg ).

20 El término "insulinotrópico", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a la capacidad de estimular la liberación de la insulina en el torrente circulatorio.

25 El término "resistencia insulínica", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una alteración de la respuesta biológica a una determinada concentración de insulina (es decir, la disminución del transporte de glucosa a través de la membrana celular como respuesta a la insulina).

30 El término "excipiente o aditivo farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un excipiente o aditivo atóxico que se puede administrar a un paciente junto con un compuesto de la presente invención, y que no elimina la actividad farmacológica del mismo.

35 Los términos "poliquistosis ovárica", "PCOS", "enfermedad ovárica poliquística" o "síndrome de Stein-Leventhal", tal como se utilizan en la presente memoria se refieren a una enfermedad que afecta a las mujeres. Las mujeres diagnosticadas con PCOS pueden presentar uno o más de los síntomas siguientes: anovulación (períodos menstruales irregulares o ausentes), hiperandrogenismo (testosterona sérica y/o androstenediona), alteraciones en la metrorragia, hipertrofia de los ovarios multifoliculares, esterilidad, obesidad, resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hipertensión, hiperlipidemia, diabetes mellitus de tipo 2, exceso de crecimiento del vello facial, pérdida de cabello y acné.

40 Los términos "terapéuticamente o farmacéuticamente efectivo" o "cantidad terapéuticamente o farmacéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención necesaria para reducir o disminuir la gravedad de la o de cualquiera de sus síntomas (por ejemplo, resistencia insulínica, hiperinsulinemia, diabetes mellitus de tipo 2, obesidad, hipertensión, hiperlipidemia, anovulación u ovulación irregular, esterilidad, hiperandrogenismo, hirsutismo, alopecia, acné, hipertrofia de los ovarios multifoliculares y alteraciones en la metrorragia, durante un cierto período de tiempo). Una cantidad terapéuticamente o farmacéuticamente efectiva también significa la cantidad necesaria para mejorar los síntomas clínicos de un paciente.

50 El término "diabetes mellitus de tipo 2", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una enfermedad, conocida también como diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM) o diabetes mellitus que debuta en adultos (AODM), en la que un paciente presenta unas concentraciones elevadas de los niveles de glucosa en la sangre.

55 La presente invención describe el tratamiento de la PCOS en una paciente. Dicho tratamiento puede comprender la administración a una paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un GLP-1 determinado. La presente invención describe además la disminución de la resistencia insulínica utilizando un GLP-1 determinado. Muchos de los síntomas asociados a la PCOS proceden de una resistencia insulínica subyacente.

#### Péptido similar al glucagón-1 (GLP-1)

60 El GLP-1 desempeña un papel clave en la regulación de la homeostasis de la glucosa en plasma. Está implicado en la estimulación de la secreción de insulina y en la inhibición de la liberación de glucagón por parte del páncreas, inhibiendo la secreción de los ácidos gástricos y la motilidad, y reduciendo el apetito y la ingesta de alimentos. El GLP-1 es un miembro del grupo de las hormonas incretinas secretagogas que se liberan de las células intestinales enteroendocrinas como respuesta a la ingestión de alimentos. El GLP-1 se une al receptor del GLP-1, que se expresa en las células del páncreas. El enlace de GLP-1 con su receptor activa una vía de señalización intracelular que tiene como resultado la estimulación de la secreción de insulina con la inhibición concomitante de la producción de glucagón. Ello a su vez provoca la inhibición de la producción de glucosa hepática, lo que disminuye los niveles de glucosa en la sangre. Aunque el papel del GLP-1 en el mantenimiento de la concentración plasmática

de glucosa quedó bien determinado con anterioridad a la presente invención, se desconocía que el GLP-1 podía asimismo aumentar la sensibilidad a la insulina.

5 Tal como se utiliza en la presente memoria, una "molécula de GLP-1" comprende los siguientes compuestos. Los péptidos GLP de mamíferos y el glucagón se codifican mediante el mismo gen. En el íleon, se procesa el precursor en dos clases principales de hormonas peptídicas GLP, es decir, el GLP-1 y el GLP-2. El GLP-1 (1-37) presenta la siguiente secuencia: His-Asp-Glu-Phe-Glu-Arg-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-val-ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly (SEC ID N.º: 1). El GLP-1(1-37) se amida tras la traducción para proporcionar el GLP-1(1-36) NH<sub>2</sub>, que presenta la secuencia: His-Asp-Glu-Phe-Glu-Arg-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg (NH<sub>2</sub>) (SEC ID N.º: 2), o se procesa enzimáticamente para producir el GLP-1(7-37), que presenta la secuencia: His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly (SEC ID N.º: 3). El GLP-1(7-37) también se puede amidar para producir la GLP-1(7-36)amida, que presenta la secuencia: His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg(NH<sub>2</sub>) (SEC ID N.º: 4). Del mismo modo, la GLP-1(1-36)amida se puede convertir en GLP-1(7-36)amida.

20 Las células L intestinales secretan el GLP-1(7-37) (SEC ID N.º: 3) y el GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 4) en una proporción de aproximadamente 1:5. Dichas formas parciales del GLP-1 presentan unas semividas cortas *in vivo* (inferiores a 10 minutos) y se inactivan mediante una aminodipeptidasa (DPP IV) para producir el GLP-1(9-37), que presenta la secuencia: Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Gly (SEC ID N.º: 5), y el GLP-1(9-36) amida, que presenta la secuencia: Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg(NH<sub>2</sub>) (SEC ID N.º: 6), respectivamente. Se ha considerado que los péptidos GLP-1 (9-37) y GLP-1 (9-36) amida pueden afectar a la producción de glucosa hepática, pero parece ser que no estimulan la producción o la liberación de insulina por parte del el páncreas.

30 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "molécula de GLP-1" comprende GLP-1 (1-37), GLP-1 (1-36) NH<sub>2</sub>, GLP-1 (7-37), GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> ("GLP-1 (7-36) amida") (denominadas en conjunto "péptidos GLP-1"). La presente invención comprende la utilización de péptidos GLP-1 recombinantes humanos y péptidos GLP-1 obtenidos a partir de otras especies, recombinantes o sintéticos.

35 En un aspecto de la presente invención, las sustituciones comprenden una o más sustituciones conservadoras. Una sustitución "conservadora" indica la sustitución de un aminoácido por otro aminoácido con una actividad biológica similar. Los ejemplos de sustituciones conservadoras comprenden la sustitución de un aminoácido hidrófobo, tal como isoleucina, valina, leucina o metionina por otro, o la sustitución de un aminoácido polar por otro, tal como la sustitución de arginina por lisina, ácido glutámico por ácido aspártico, o glutamina por asparagina, y similares. La siguiente tabla presenta una lista ilustrativa, pero no limitativa, de sustituciones conservadoras de aminoácidos.

AMINOÁCIDO ORIGINAL	SUSTITUCIONES DE EJEMPLO
ALA	SER, THR
ARG	LYS
ASN	HIS, SER
ASP	GLU, ASN
CYS	SER
GLN	ASN, HIS
GLU	ASP, GLU
GLY	ALA, SER
HIS	ASN, GLN
ILE	LEU, VAL, THR
LEU	ILE, VAL
LYS	ARG, GLN, GLU, THR
MET	LEU, ILE, VAL
PHE	LEU, TYR
SER	THR, ALA, ASN
THR	SER, ALA
TRP	ARG, SER
TYR	PHE
VAL	ILE, LEU, ALA
PRO	ALA

Se entiende además que las variantes del péptido GLP-1 comprenden los péptidos descritos anteriormente, que se han obtenido o alterado químicamente, por ejemplo, a partir de péptidos con aminoácidos sintéticos (por ejemplo, taurina, β- y γ-aminoácidos y D-aminoácidos), modificaciones del grupo funcional carboxiterminal, tales como amidas, ésteres, y modificaciones cetónicas carboxiterminales y modificaciones del grupo funcional aminoterminal, tales como aminas aciladas, bases de Schiff, o ciclación, tal como por ejemplo el aminoácido ácido piroglutámico.

Se encuentran asimismo comprendidas en la presente invención composiciones para utilizar tal como se define en la presente memoria que comprenden secuencias peptídicas que presentan más del 90% de identidad de la secuencia con respecto a (1) las SEC ID N.º: 1, 2, 3, 4. Tal como se utiliza en la presente memoria, la identidad de la secuencia se refiere a una comparación realizada entre dos moléculas utilizando algoritmos estándar muy conocidos en la técnica. El algoritmo preferido para el cálculo de la identidad de la secuencia de la presente invención es el algoritmo de Smith-Waterman, en el que la SEC ID N.º: 1 [es decir, el GLP-1 (1-37)] se utiliza como secuencia de referencia para definir el porcentaje de identidad de los homólogos a lo largo de su longitud. La elección de los valores de los parámetros para los emparejamientos, los aparejamientos incorrectos y las inserciones o las deleciones es arbitraria, aunque se ha descubierto que algunos valores de los parámetros producen unos resultados biológicamente más realistas que otros. Un conjunto preferido de valores de parámetros para el algoritmo de Smith-Waterman se establece en el enfoque de los "segmentos de similitud máxima", que utiliza valores de 1 para un residuo emparejado y - para un residuo mal emparejado (siendo un residuo tanto un nucleótido simple como un aminoácido simple). Waterman, Bull. Math. Biol. 46, 473 (1984). Las inserciones y las deleciones (indeles), x, se ponderan como  $x_k = 1 + k$ , siendo k el número de residuos en una inserción o deleción determinada. *Id.*

Por ejemplo, una secuencia que es idéntica a la secuencia de 37 aminoácidos de SEC ID N.º 1, excepto en 18 sustituciones de aminoácidos y la inserción de 3 aminoácidos, presentaría un porcentaje de identidad proporcionado por:

$$[1 \times 37 \text{ aparejamientos}) - (x \text{ 18 aparejamientos incorrectos}) - (1 + 3/3 \text{ indeles})] / 37 = 78\% \text{ de "identidad"}$$

Se describen además seis péptidos procedentes de los venenos del monstruo de Gila que son homólogos al GLP-1. Sus secuencias se comparan a la secuencia del GLP-1 en la Tabla 1.

TABLA 1

a.	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 (NH <sub>2</sub> )
b.	H S D G T F T S D L S K Q M E E E A V R L F I E W L K N G G P S S G A P P P S (NH <sub>2</sub> )
c.	D L S K Q M E E E A V R L F I E W L K N G G P S S G A P P P S (NH <sub>2</sub> )
d.	H G E G T F T S D L S K Q M E E E A V R L F I E W L K N G G P S S G A P P P S (NH <sub>2</sub> )
e.	H S D A T F T A E Y S K L L A K L A L Q K Y L E S I L G S S T S P R P P S S
f.	H S D A T F T A E Y S K L L A K L A L Q K Y L E S I L G S S T S P R P P S
g.	H S D A I F T E E Y S K L L A K L A L Q K Y L A S I L G S R T S P P P (NH <sub>2</sub> )
h.	H S D A I F T Q Q Y S K L L A K L A L Q K Y L A S I L G S R T S P P P (NH <sub>2</sub> )

- a = GLP-1 (7-36) amida (SEC. ID N.º: 4)
- b = exendina 3 (SEC. ID N.º: 7)
- c = exendina 4 (9-39 (NH<sub>2</sub>)) (SEC. ID N.º: 8)
- d = exendina 4 (SEC. ID N.º: 9)
- e = helospectina I (SEC. ID N.º: 10)
- f = helospectina II (SEC. ID N.º: 11)
- g = helodermina (SEC. ID N.º: 12)

h = helodermina Q<sup>8</sup>, Q<sup>9</sup> (SEC. ID N.º: 13)

Los péptidos (a, b, d, e, f y g) son homólogos en las posiciones 1, 7, 11 y 18. El GLP-1 y las exendinas son homólogas además en las posiciones, 4, 5, 6, 8, 9, 15, 22, 23, 25, 26 y 29. En la posición 2, A (Ala), S (Ser) y G (Gly) son estructuralmente similares. En la posición 3, los aminoácidos D (Asp) y E (Glu) son estructuralmente similares. En las posiciones 22 y 23, F (Phe) e I (Ile) son estructuralmente similares a Y (Tyr) y L (Leu), respectivamente. Del mismo modo, en la posición 26, L e I son estructuralmente similares.

Por lo tanto, de los 30 aminoácidos del GLP-1, las exendinas 3 y 4 son idénticos en 15 posiciones y equivalentes en 5 posiciones adicionales. Las únicas posiciones con cambios estructurales importantes evidentes se encuentran en los aminoácidos 16, 17, 19, 21, 24, 27, 28 y 30. Las exendinas presentan asimismo 9 aminoácidos extra carboxiterminales.

Se han descrito agonistas del péptido similar al glucagón que presentan actividad mediante el receptor del GLP-1 (7-36) amida. Véase el documento EP 0708179 A2; Hjorth y otros., J. Biol. Chem. 269; 30121 (1994); Siegel y otros., Amer. Diabetes Assoc. 57th Scientific Session, Boston (1997); Hareter y otros., Amer. Diabetes Assoc. 57th Scientific Session, Boston (1997); Adelhorst y otros., J. Biol. Chem. 269, 6275 (1994); Deacon y otros., 16th International Diabetes Federation Congress Abstracts, Diabetologia Supplement (1997); Irwin y otros., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94; 7915 (1997); Mojsov, Int. J. Peptide Protein Res. 40; 333 (1992). Göke & Byrne, Diabetic Medicine 13; 854 (1996). Las últimas publicaciones dan a conocer la GLP-1 Black Widow y la GLP-1 Ser<sup>2</sup>. Véase Holz & Hakner, Comp. Biochem. Physiol., Part B 121; 177 (1998) y Ritzel y otros., J. Endocrinol 159; 93 (1998).

Los receptores del GLP-1 son proteínas de la superficie celular que se encuentran, por ejemplo, en las células del páncreas productoras de insulina; en la técnica se ha caracterizado el receptor del GLP-1 (7-36). Los expertos en la materia conocen métodos para determinar si un producto químico o un péptido se enlaza con un receptor del GLP-1 o activa el mismo.

La actividad biológica de una molécula de GLP-1 se puede determinar *in vitro* y en modelos animales *in vivo* y en estudios con seres humanos, tal como resulta muy conocido por los expertos en la materia. La actividad biológica del GLP-1 se puede determinar mediante métodos convencionales, en general, mediante procedimientos de detección de la actividad de enlace del receptor, lo que implica proporcionar las células apropiadas que expresen el receptor del GLP-1, en su superficie, por ejemplo, estirpes celulares de insulinoma tales como las células RINmSF o las células INS-1. Véase Mojsov, int. J. Peptide Protein Res. 40; 333 (1992) y el documento EP 0708179 A2. Se pueden utilizar asimismo células genomanipuladas para expresar un receptor del GLP-1. Además de determinar el enlace específico del trazador con la membrana utilizando métodos de radioinmunoanálisis, se pueden determinar asimismo la actividad del AMPc o la producción de insulina dependiente de la glucosa. En un método, un polinucleótido que codifica el receptor GLP-1 se utiliza para realizar la transfección de células para que expresen la proteína receptora del GLP-1. De este modo, por ejemplo, dichos métodos se pueden utilizar en la detección de un agonista del receptor poniendo en contacto dichas células con los compuestos a analizar y determinando si dichos compuestos generan una señal (es decir, activan el receptor). Otras técnicas de detección comprenden la utilización de células que expresan el receptor del GLP-1, por ejemplo, las células CHO sometidas a transfección, en un sistema para determinar el pH extracelular o los cambios iónicos provocados por la activación del receptor. Por ejemplo, los agonistas potenciales pueden ponerse en contacto con una célula que exprese la proteína receptora del GLP-1 de proteína y se puede medir una segunda respuesta del mensajero (por ejemplo, la transducción de señales o cambios iónicos o de pH) para determinar si el agonista potencial es efectivo.

Se pueden utilizar anticuerpos policlonales y monoclonales para detectar, purificar e identificar péptidos GLP-1 para utilizarlos en los métodos descritos en la presente memoria. Los anticuerpos tales como el ABQA1178 detectan el GLP-1 (1-37) intacto o el GLP-1 (7-37) truncado en el extremo aminoterminal o la o GLP-1 (7-36) amida. Otros anticuerpos detectan el extremo carboxiterminal de la molécula precursora, un procedimiento que permite calcular por sustracción la cantidad de actividad biológica del péptido parcial (es decir, GLP-1 (7-37) amida). Orskov y otros., Diabetes 42; 658 (1993); Orskov y otros., J. Clin. Invest. 1991, 87; 415 (1991).

Las moléculas de GLP-1 para utilizar en la presente invención son péptidos que se pueden realizar mediante síntesis peptídica de productos químicos en estado sólido. Dichos péptidos se pueden realizar asimismo mediante técnicas convencionales de recombinación utilizando procedimientos estándar descritos en, por ejemplo, Sambrook y Maniatis, Molecular Cloning, A Laboratory Manual. "Recombinante", tal como se utiliza en la presente memoria, significa que un gen se obtiene en un sistema de expresión recombinante (por ejemplo, de microbios o mamíferos) que se ha modificado genéticamente para que contenga un polinucleótido que codifique una molécula de GLP-1 tal como se describe en la presente memoria.

Los péptidos de la molécula de GLP-1 para utilizar en la presente invención pueden ser un producto natural purificado, o un producto obtenido mediante procedimientos de síntesis química, o producidos por técnicas de recombinación a partir de hospedadores procariontes o eucariotes (por ejemplo, células de bacterias, levaduras, plantas superiores, insectos o mamíferos en cultivo o *in vivo*). En función del hospedador utilizado en un

procedimiento de producción por recombinación, los polipéptidos de la presente invención son por lo general no glucosilados, pero pueden ser glucosilados.

5 Los péptidos GLP-1 se pueden recuperar y purificar a partir de cultivos celulares recombinantes mediante métodos que comprenden, pero sin limitarse a los mismos, precipitación con sulfato de amonio o etanol, extracción ácida, cromatografía de intercambio de aniones o cationes, cromatografía en fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de afinidad, cromatografía en hidroxipatita y la cromatografía en lectina. Se puede utilizar la cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (HPLC) para la purificación final.

10 Las moléculas de GLP-1 de la presente invención particularmente preferidas son GLP-1 (7-36), GLP-1 (7-37) y exendina-4.

#### Usos del GLP-1

15 Las composiciones se pueden utilizar para tratar la PCOS. Muchos de los síntomas asociados a la PCOS proceden de una resistencia insulínica subyacente. Los síntomas asociados a la PCOS comprenden resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hiperandrogenismo, diabetes mellitus de tipo 2, menstruaciones irregulares, anovulación e esterilidad. Por lo tanto, la presente invención da a conocer el tratamiento de la resistencia insulínica en una paciente que padece PCOS que comprende la etapa de administrar GLP-1.

20 La resistencia insulínica se puede deber a uno o diversos hechos, entre ellos anomalías en un prerreceptor (por ejemplo, anomalías en el ligando o en la competencia), en un receptor (por ejemplo, anomalías en la estructura, en la afinidad de los ligandos para los receptores o en el número de receptores) o en un posreceptor (por ejemplo, anomalías en la señalización). La resistencia insulínica se puede determinar mediante diversos métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la técnica de pinzamiento hiperinsulinémico normoglucémico se puede utilizar para diagnosticar la resistencia insulínica (Rao, G., Am. Fam. Physician (2001) 63:1159-63). Dicha técnica comprende la administración intravenosa de una dosis de insulina al mismo tiempo que se mantiene la glucosa en un nivel predeterminado dentro del intervalo normal administrando asimismo glucosa. En el equilibrio, se puede calcular la cantidad de absorción de glucosa por parte de un tejido en particular en presencia de una cierta dosis de insulina.

25 Otros métodos utilizados para detectar la resistencia insulínica comprenden la prueba de inhibición de la insulina, la prueba de la tolerancia a la glucosa por vía intravenosa y la venoclisis constante de glucosa con valoración del modelo (Rao, G., supra).

35 En otra forma de realización, la presente invención se refiere a evitar la aparición de la diabetes mellitus tipo 2 en una paciente que padece PCOS comprendiendo la etapa de administrar GLP-1. La diabetes mellitus de tipo 2 es a menudo consecuencia de la hiperinsulinemia provocada por la resistencia insulínica. Por lo tanto, el tratamiento de resistencia insulínica en dichos pacientes evitaría el desarrollo de la diabetes mellitus de tipo 2. Los métodos de diagnóstico de la diabetes mellitus de tipo 2 resultan muy conocidos en la técnica.

40 En otra forma de realización, la presente invención se refiere a restablecer la menstruación regular, a restablecer la ovulación regular y/o a restablecer la fecundidad en una paciente que padece PCOS comprendiendo la etapa de administrar GLP-1. Las pacientes con PCOS suelen presentar hiperandrogenismo, que se cree que está provocado por la hiperinsulinemia. El hiperandrogenismo causa involución folicular, anovulación e esterilidad. Por lo tanto, al reducir la resistencia insulínica administrando una molécula de GLP-1 se puede mejorar la hiperinsulinemia, restableciendo de este modo la menstruación regular, la ovulación y/o la fecundidad.

Preferentemente, la sustancia sensibilizante a la insulina se selecciona de entre el grupo constituido por metformina, D-chiro-inositol, diazóxido y un inhibidor de la PPAR.

50 Preferentemente, el inhibidor de la PPAR se selecciona de entre el grupo constituido por troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona.

En una forma de realización, la sustancia sensibilizante a la insulina es la metformina.

55 En dichas formas de realización, la composición y la sustancia utilizadas en combinación se administran preferentemente secuencial o simultáneamente.

Preferentemente, la composición para utilizar en la presente invención se administra mediante venoclisis o por inyección subcutánea en una formulación de liberación lenta.

60 En otra forma de realización, la presente invención se refiere al tratamiento de la PCOS comprendiendo la administración en politerapia, en una paciente que lo necesite, del GLP-1 con un medicamento que provoque la ovulación (por ejemplo, clomifeno, Follistim, o Gonal-F).

65 En otra forma de realización, la presente invención se refiere al tratamiento de la PCOS comprendiendo la administración en politerapia, en una paciente que lo necesite, del GLP-1 con un fármaco antiandrogénico,

comprendiendo, pero sin limitarse a los mismos, anticonceptivos orales (por ejemplo, progestágenos y estrógenos), la espironolactona, flutamida y finasterida.

5 En otra forma de realización, la presente invención se refiere al tratamiento de la PCOS comprendiendo la administración en politerapia, en una paciente que lo necesite, del GLP-1 con una sustancia sensibilizante de la insulina, comprendiendo, pero sin limitarse a los mismos, metformina, D-chiro-inositol, diazóxido e inhibidores de la PPAR (por ejemplo, troglitazona (Rezulin), rosiglitazona (Avandia) y pioglitazona (Actos)).

10 En otra forma de realización, la presente invención se refiere al tratamiento de la PCOS comprendiendo la administración en politerapia, en una paciente que lo necesite, del GLP-1 con glucosa. En una forma de realización más preferida, la glucosa se administra por vía intravenosa.

15 Cuando los compuestos de la presente invención se administran en politerapia tal como se ha descrito anteriormente, se pueden administrar secuencial o simultáneamente al paciente. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender una combinación de una molécula específica de GLP-1 y otra sustancia tal como se ha descrito anteriormente.

20 En una forma de realización preferida, la paciente que padece PCOS es un mamífero, por ejemplo, una perra, una gata o un roedor. En una forma de realización más preferida, el paciente que padece PCOS es un ser humano.

#### Composiciones farmacéuticas

25 Las moléculas de GLP-1 se pueden formular en composiciones farmacéuticas para administrar a pacientes, entre ellos seres humanos. Dichas composiciones farmacéuticas, comprenden preferentemente una cantidad de GLP-1 efectiva para tratar, por ejemplo, la resistencia insulínica, prevenir la aparición de la diabetes mellitus de tipo 2, restablecer la menstruación regular y/o la ovulación y tratar la esterilidad, en una paciente que padece PCOS, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 Los excipientes farmacéuticamente aceptables útiles en dichas composiciones farmacéuticas comprenden, por ejemplo, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como la seroalbúmina humana, sustancias amortiguadoras del pH, tales como los fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos saturados vegetales, agua, sales o electrólitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, povidona, sustancias basadas en la celulosa, macrogol, carmelosa sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno y polioxietileno, macrogol y lanolina.

40 Las composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía parenteral, por vía oral, mediante pulverización para inhalación, por vía tópica, rectal, intranasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. El término "parenteral", tal como se utiliza en la presente memoria, comprende las técnicas de inyección o venoclisis subcutánea, intravenosa, intramuscular, intrarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferentemente, las composiciones se administran mediante una bomba de venoclisis o inyección subcutánea de una formulación de liberación lenta.

45 Las formas inyectables estériles de las composiciones de la presente invención pueden ser suspensiones acuosas u oleosas. Dichas suspensiones se pueden formular según procedimientos conocidos en la técnica, utilizando dispersantes o humectantes y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser asimismo una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable o disolvente, por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los excipientes y disolventes aceptables que se pueden utilizar se encuentran el agua, la solución de Ringer y una solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles se utilizan convencionalmente como medio disolvente o de suspensión. Para ello, se puede utilizar cualquier aceite fijo suave comprendiendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados glicéridos resultan útiles en la preparación de inyectables, al igual que los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tal como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Dichas soluciones o suspensiones de aceite pueden comprender asimismo un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, tal como la carmelosa o agentes dispersantes similares que se utilizan habitualmente en la formulación de presentaciones farmacéuticamente aceptables, comprendiendo las emulsiones y las suspensiones. Se pueden utilizar asimismo en la formulación otros tensioactivos de uso común, tales como Tweens, Spans y otros emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se utilizan comúnmente en la fabricación de sólidos, líquidos u otras presentaciones farmacéuticamente aceptables.

60 Las formulaciones parenterales pueden ser una dosis única en embolada, una venoclisis o una dosis de carga en embolada seguida de una dosis de mantenimiento. Dichas composiciones se pueden administrar una vez al día o según se necesite.

65 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar por vía oral mediante cualquier presentación oral apta, comprendiendo cápsulas, comprimidos y suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de

los comprimidos de uso oral, los excipientes utilizados habitualmente comprenden lactosa y almidón de maíz. Normalmente se añaden asimismo lubricantes, tales como el estearato de magnesio. En el caso de la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles comprenden lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas de uso oral, el principio activo se combina con emulsionantes y agentes de suspensión. Si se pretende de este modo, se pueden añadir asimismo ciertos edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar en forma de supositorios para administración rectal. Estos se pueden preparar mezclando la sustancia con un excipiente no irritante adecuado que sea sólido a la temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se funda en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales comprenden la manteca de cacao, la cera de abejas y los macrogles.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar asimismo por vía tópica. La aplicación tópica se puede realizar en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema adecuada. Se pueden utilizar asimismo parches transdérmicos.

En el caso de las aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas se pueden formular en un ungüento apto que contenga el principio activo suspendido o disuelto en uno o más excipientes. Los excipientes para la administración tópica de los compuestos de la presente invención comprenden aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, macrogol, polioxietileno, compuestos de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas se pueden formular en una loción o crema apta que contenga los principios activos suspendidos o disueltos en uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes aptos comprenden, pero sin limitarse a los mismos, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

En el caso de un uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas se pueden formular como suspensiones micronizadas en soluciones salinas estériles isotónicas con el pH ajustado o, preferentemente, como soluciones en soluciones salinas estériles isotónicas con el pH ajustado, ya sea con o sin un conservante tal como el cloruro de benzalconio. Alternativamente, en el caso de un uso oftálmico, las composiciones farmacéuticas se pueden formular como un ungüento tal como la vaselina.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar mediante un aerosol nasal o mediante pulverización para inhalación. Dichas composiciones se preparan según técnicas muy conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y se pueden preparar como disoluciones en solución salina, utilizando alcohol bencílico u otros conservantes aptos, activadores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarburos, y/u otros solubilizantes o agentes dispersantes convencionales.

La cantidad de molécula de GLP-1 que se puede combinar con los materiales excipientes para producir una presentación simple variará en función del paciente tratado y del modo particular de administración. Las composiciones se pueden formular de tal modo que se administre una dosis comprendida entre 0,1 y 1000 pmoles / kg de peso corporal / minuto (cuando se administra por venoclisis) de la molécula de GLP-1 a un paciente que reciba dichas composiciones. En algunas formas de realización de la presente invención, la dosis se encuentra comprendida entre 1 y 10 pmoles / kg de peso corporal / minuto (cuando se administra por venoclisis). En una forma de realización preferida la dosis se encuentra comprendida entre 0,5 y 2,0 pmoles/kg/min cuando se administra por venoclisis. La composición se puede administrar como dosis única, dosis múltiples o durante un período de tiempo determinado en una venoclisis.

En una forma de realización preferida, el GLP-1 se administra a pacientes con poliquistosis ovárica confirmada. En otra forma de realización preferida, el GLP-1 se administra mediante inyección por lo menos una vez al día o por venoclisis continua mediante bomba. En otra forma de realización preferida, el GLP-1 se formula para la administración desde un depósito subcutáneo durante un período de días a semanas, la administración oral o por inhalación intermitente.

Una dosis específica y una pauta posológica para cualquier paciente particular dependerá de diversos factores, entre ellos la molécula particular de GLP-1, la edad del paciente, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta, y el tiempo de administración, el índice de eliminación, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular que se trata. Los cuidadores médicos expertos en la materia podrán considerar con criterio dichos factores. La cantidad de moléculas de GLP-1 dependerá asimismo de cada paciente a tratar, la vía de administración, el tipo de formulación, las características del compuesto utilizado, la gravedad de la enfermedad y el efecto pretendido. Las cantidades de moléculas de GLP-1 se pueden determinar mediante principios farmacológicos y farmacocinéticos muy conocidos en la técnica.

A fin de que la presente invención descrita en la presente memoria se pueda comprender mejor, se exponen los siguientes ejemplos. Se debe entender que dichos ejemplos se proporcionan únicamente a título ilustrativo y no se han de considerar como limitativos en modo alguno.

**EJEMPLOS**

1. Tratamiento con GLP-1 de una paciente con PCOS

- 5 Los pacientes con PCOS son exclusivamente mujeres. En general, las mujeres premenopáusicas manifiestan la enfermedad con síntomas de menstruación irregular, esterilidad, crecimiento excesivo del vello corporal, acné y caída del cabello. Las mujeres posmenopáusicas pueden presentar todos estos síntomas, excepto la menstruación irregular. La obesidad, la hipertensión y la diabetes son trastornos que habitualmente acompañan la PCOS.
- 10 El diagnóstico de la PCOS se confirma determinando el nivel de testosterona en suero y/o la proporción de LH / FSH en suero. Unos niveles elevados de testosterona en suero ( $> 60$  ng/ml) o anomalías en la proporción LH / FSH en suero ( $<2,5$ ) son signos de la PCOS.
- 15 Las pacientes con PCOS confirmada se tratarán con el GLP-1. El GLP-1 se administrará por inyección una vez o más cada día o por venoclisis continua mediante una bomba, que libera una cantidad constante de fármaco. Alternativamente, el GLP-1 se formulará para la administración desde un depósito subcutáneo durante días o semanas, por inhalación intermitente o por vía oral.
- 20 Independientemente del modo de administración, la cantidad total de GLP-1 administrada a la sangre de una paciente con PCOS se encontrará comprendida entre 720 y 2.880 pmoles/kg/día. Ello equivale a unos valores de 0,5 a 2,0 pmoles/kg/min cuando se administra por venoclisis intravenosa.
- 25 La eficacia del GLP-1 se establecerá determinando la mejora o la regresión de los síntomas actuales, comprendiendo, pero sin limitarse a los mismos, la normalización de la menstruación, el restablecimiento de la fecundidad, la pérdida del exceso de vello corporal, la solución de los problemas con el acné y el cese de la caída del cabello. Se pueden utilizar otros indicadores de la eficacia del GLP-1, comprendiendo, pero sin limitarse a los mismos, los niveles séricos de testosterona y las proporciones LH / FSH. Se determinara la eficacia del GLP-1 por una disminución en los niveles séricos de testosterona y un aumento de la proporción LH / FSH.
- 30

LISTADO DE LA SECUENCIA

<110> Amylin Pharmaceuticals

5 <120> Métodos y composiciones para el tratamiento de la poliquistosis ovárica

<130> N.92462 TJD

<140> EP 03703804.9

10 <141> 2003-01-14

<140> PCT/US03/01109

<141> 2003-01-14

15 <150> US 60/350,395

<151> 2002-01-22

<150> US 10/317,126

<151> 2002-12-11

20

<160> 13

<170> PatentIn version 3.2

25 <210> 1

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30 <400> 1

His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val  
1 5 10 15

35

Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu  
20 25 30

40

Val Lys Gly Arg Gly  
35

<210> 2

<211> 36

45 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MOD\_RES

50 <222> (36)..(36)

<223> AMIDACIÓN

<400> 2

55 His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val  
1 5 10 15

60

Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu  
20 25 30

Val Lys Gly Arg  
35

65 <210> 3

<211> 31

ES 2 372 481 T3

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 3

5 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
1 5 10 15

10 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
20 25 30

<210> 4  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> MOD\_RES  
20 <222> (30)..(30)  
<223> AMIDACIÓN

<400> 4

25 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
1 5 10 15

30 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg  
20 25 30

<210> 5  
<211> 29  
<212> PRT  
35 <213> Homo sapiens

<400> 5

40 Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala  
1 5 10 15

45 Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
20 25

<210> 6  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens <220>  
50 <221> MOD\_RES  
<222> (28)..(28)  
<223> AMIDACIÓN

<400> 6

55 Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala  
1 5 10 15

60 Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg  
20 25

<210> 7  
<211> 39  
65 <212> PRT  
<213> Heloderma suspectum

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (39)..(39)  
 5 <223> AMIDACIÓN  
  
 <400> 7  
  
 10 His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
  
 15 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
  
 20 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 <210> 8  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Heloderma suspectum  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (31)..(31)  
 <223> AMIDACIÓN  
  
 30 <400> 8  
  
 Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu  
 1 5 10 15  
  
 35 Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 20 25 30  
  
 40 <210> 9  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Heloderma suspectum  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (39)..(39)  
 <223> AMIDACIÓN  
  
 50 <400> 9  
  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
  
 55 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
  
 60 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 <210> 10  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 65 <213> Heloderma suspectum

ES 2 372 481 T3

<400> 10  
 His Ser Asp Ala Thr Phe Thr Ala Glu Tyr Ser Lys Leu Leu Ala Lys  
 1 5 10 15  
 5  
 Leu Ala Leu Gln Lys Tyr Leu Glu Ser Ile Leu Gly Ser Ser Thr Ser  
 20 25 30  
 10  
 Pro Arg Pro Pro Ser Ser  
 35  
 <210> 11  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Heloderma suspectum  
 <400> 11  
 20 His Ser Asp Ala Thr Phe Thr Ala Glu Tyr Ser Lys Leu Leu Ala Lys  
 1 5 10 15  
 25 Leu Ala Leu Gln Lys Tyr Leu Glu Ser Ile Leu Gly Ser Ser Thr Ser  
 20 25 30  
 Pro Arg Pro Pro Ser  
 35  
 30  
 <210> 12  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Heloderma suspectum  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (35)..(35)  
 <223> AMIDACIÓN  
 40 His Ser Asp Ala Ile Phe Thr Glu Glu Tyr Ser Lys Leu Leu Ala Lys  
 1 5 10 15  
 45 Leu Ala Leu Gln Lys Tyr Leu Ala Ser Ile Leu Gly Ser Arg Thr Ser  
 20 25 30  
 50 Pro Pro Pro  
 35  
 <400> 12  
 <210> 13  
 <211> 35  
 55 <212> PRT  
 <213> Heloderma suspectum  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 60 <222> (35)..(35)  
 <223> AMIDACIÓN  
 <400> 13

ES 2 372 481 T3

His Ser Asp Ala Ile Phe Thr Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Leu Ala Lys  
1                   5                   10                   15

5 Leu Ala Leu Gln Lys Tyr Leu Ala Ser Ile Leu Gly Ser Arg Thr Ser  
20                   25                   30

Pro Pro Pro  
35

## REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Composición que comprende una molécula de GLP-1 seleccionada de entre GLP-1 (1-37) (SEC ID N.º: 1), GLP-1 (1-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 2), GLP-1 (7-37) (SEC ID N.º: 3), GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 4), exendina-3 (SEC ID N.º: 7), exendina-4 (SEC ID N.º: 9) o una variante biológicamente activa que presente más del 90% identidad de la secuencia con cualquiera de las SEC ID 1 a 4, para utilizar en el tratamiento de una paciente que padece poliquistosis ovárica (PCOS) - en la que el paciente presenta por lo menos un síntoma indicativo de PCOS seleccionado de entre el grupo que comprende resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hipertensión, hiperlipidemia, anovulación u ovulación irregular, esterilidad, hiperandrogenismo, hirsutismo, alopecia, acné, hipertrofia de los ovarios multifoliculares, alteraciones en la metrorragia y abortos espontáneos.
- 10
- 2.** Composición para utilizar según la reivindicación 1, en la que la composición se utiliza junto con una sustancia seleccionada de entre el grupo que comprende un medicamento para provocar la ovulación, un fármaco antiandrogénico, un sustancia sensibilizante de la insulina y glucosa.
- 15
- 3.** Composición para utilizar según la reivindicación 2, en la que el medicamento para provocar la ovulación se selecciona de entre el grupo que comprende clomifeno, Follistim y Gonal-F, el fármaco antiandrogénico se selecciona de entre el grupo que comprende anticonceptivos orales, espironolactona, flutamida y finasterida, o la sustancia sensibilizante a la insulina se selecciona de entre el grupo constituido por metformina, D-chiro-inositol, diazóxido y un inhibidor de la PPAR.
- 20
- 4.** Composición para utilizar según la reivindicación 2, en la que la sustancia es un sustancia sensibilizante a la insulina.
- 25
- 5.** Composición que comprende una molécula de GLP-1 seleccionada de entre GLP-1 (1-37) (SEC ID N.º: 1), GLP-1 (1-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 2), GLP-1 (7-37) (SEC ID N.º: 3), GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N.º: 4), exendina-3 (SEC ID N.º: 7), exendina-4 (SEC ID N.º: 9) o una variante biológicamente activa que presente más del 90% identidad de la secuencia con cualquiera de las SEC ID 1 a 4, junto con un sustancia sensibilizante a la insulina, para utilizar en el tratamiento de una paciente que padece poliquistosis ovárica (PCOS) presentando la paciente por lo menos un síntoma indicativo de PCOS.
- 30
- 6.** Composición para utilizar según la reivindicación 5, en la que la paciente presenta por lo menos un síntoma indicativo de PCOS seleccionado de entre el grupo que comprende resistencia insulínica, hiperinsulinemia, hipertensión, hiperlipidemia, anovulación u ovulación irregular, esterilidad, hiperandrogenismo, hirsutismo, alopecia, acné, hipertrofia de los ovarios multifoliculares, alteraciones en la metrorragia y abortos espontáneos.
- 35
- 7.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que la sustancia sensibilizante a la insulina se selecciona de entre el grupo constituido por metformina, D-chiro-inositol, diazóxido y un inhibidor de la PPAR.
- 40
- 8.** Composición para utilizar según la reivindicación 7, en la que el inhibidor de la PPAR se selecciona de entre el grupo constituido por troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona.
- 9.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que la sustancia sensibilizante a la insulina es la metformina.
- 45
- 10.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en la que la composición y la sustancia utilizadas en politerapia se administran secuencial o simultáneamente.
- 50
- 11.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 5, para reducir la resistencia insulínica, prevenir la aparición de la diabetes de tipo 2, restablecer la menstruación regular, restablecer la ovulación regular, restablecer la fecundidad o prevenir abortos espontáneos en la paciente.
- 12.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el paciente es un ser humano.
- 55
- 13.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición comprende GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> o exendina-4.
- 14.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición comprende exendina-4.
- 60
- 15.** Composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la composición se administra mediante una bomba de venoclisis o por inyección subcutánea de una formulación de liberación lenta.