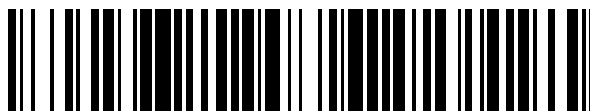


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 685**

51 Int. Cl.:
A61K 38/10 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04730725 .1**
96 Fecha de presentación: **30.04.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1632244**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.03.2006**

54 Título: **Preventivos o remedios para hepatopatía**

30 Prioridad:
30.04.2003 JP 2003126088

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.06.2012

73 Titular/es:
KANGAWA, KENJI
28-4-201, ONOHARAHIGASHI 6-CHOME
MINOO-SHI, OSAKA 562-0031, JP

72 Inventor/es:
KANGAWA, Kenji y
HOSODA, Hiroshi

74 Agente/Representante:
Illescas Taboada, Manuel

ES 2 383 685 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).

DESCRIPCION

Preventivos o remedios para hepatopatía

5 **Campo Técnico**

La presente invención se refiere a un agente terapéutico para hepatopatía. Más particularmente, la presente invención se refiere a un medicamento que contiene, como un ingrediente eficaz, un derivado polipeptídico que tienen una actividad de unión a receptor de secretagogo de la hormona de crecimiento (en lo sucesivo en este documento, abreviado como GHS-R) y elevar de este modo la concentración del ión cálcico intracelular, y es útil para recuperar regeneración hepática y función hepática o para promover la recuperación después de hepatectomía.

Antecedentes de la técnica

15 El hígado es un órgano indispensable para el mantenimiento de la vida que desempeña un papel importante en el metabolismo de muchas sustancias. A través del sistema de regulación en cuerpos vivos, el hígado tiene una función importante para mantener la homeostasis en un nivel en sangre de azúcar y lípidos, y proporciona energía a todos los tejidos de un cuerpo vivo. Además, el hígado sintetiza muchos péptidos y los suministra a la sangre y los tejidos. Por lo tanto, el hígado tiene una función extremadamente importante en el mantenimiento de la vida, tal como metabolismo de sustancias biológicas tal como metabolismo de azúcares, metabolismo de aminoácidos/proteínas y metabolismo de lípidos, excreción de metabolitos, destoxicación de sustancias químicas tales como amoniaco y almacenamiento de vitaminas.

25 En el hígado, se sabe que se desarrolla hepatitis a causa de infección viral, consumo de alcohol y consumo de drogas, y cuando la hepatitis se vuelve crónica, una parte de la misma se desplaza a cirrosis hepática, y su mortalidad aumenta. Se sabe que, en pacientes con hepatopatía tal como hepatitis, cirrosis hepática e insuficiencia hepática, se producen reducción de fibrinógeno, reducción de plaquetas, prolongación del tiempo de coagulación de la sangre, y aumento de las enzimas en suero liberadas del hígado, acompañado de reducción de la función hepática. Por esta razón, aparece una tendencia a la hemorragia, y ésta es una causa que conduce a la muerte de los pacientes (Bibliografía no Patente 1). En la actualidad, se usan glicirrizina, glutatión y vitaminas para mejorar la función hepática, pero aún no se ha desarrollado un agente terapéutico adecuado para tratar enfermedades hepatopáticas tales como hepatitis crónica, hepatopatía alcohólica, hígado graso, cirrosis hepática e insuficiencia hepática, y se aplica principalmente una terapia de dieta tomando alimentos altos en proteínas/altos en calorías. Dos millones de pacientes padecen enfermedades hepáticas en Japón, dos mil pacientes mueren de cánceres de hígado por cirrosis hepática en un año, pero no existe un método terapéutico eficaz. Para hepatitis viral, se usa frecuentemente interferón, pero el interferón no es eficaz para todos los pacientes con hepatitis, manifestándose frecuentemente efectos secundarios graves tales como suicidio, lo que resulta problemático.

40 Para enfermedades hepáticas, además de la terapia farmacológica anteriormente mencionada, se realiza tratamiento farmacológico interno tal como inyección de etanol percutánea, ablación por microondas y embolización de la arteria hepática, o se realiza tratamiento quirúrgico tal como hepatectomía y trasplante de hígado de un donante vivo, y cualquiera de estos tratamientos se realiza en la actualidad. La selección de un tratamiento interno o quirúrgico por un médico depende de la edad y las condiciones físicas del paciente, por ejemplo, el estado de enfermedades tales como el tamaño y el número de cánceres, y la función hepática, determinados caso a caso en el campo médico, y habitualmente precede un tratamiento farmacológico interno. Cuando se realiza tratamiento quirúrgico, el tratamiento se basa en la premisa de que el número de cánceres está limitado a unos pocos, y se conserva la función hepática restante. Si se selecciona tratamiento farmacológico interno o bien se selecciona tratamiento quirúrgico, se observa reducción o anomalía de la función hepática en muchos casos después de estos tratamientos. Particularmente, en el caso de trasplante de hígado de donante vivo, se ve frecuentemente reducción o anomalía de la función hepática después de la operación de trasplante tanto en un donante como en un receptor. En la actualidad, para dicha reducción o anomalía de la función hepática después de la operación del hígado, se controla el estado de nutrientes, pero el tratamiento no evita la reducción o la anomalía, y se requiere terapia eficaz para prevenir o disminuir la reducción o anomalía de la función hepática después de la operación del hígado.

55 Usando un modelo animal de fibrosis hepática o cirrosis hepática, se ha notificado supresión de la fibrosis hepática en factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (Bibliografía no Patente 2, Bibliografía no Patente 3) o interferón α , β y γ (Bibliografía no Patente 4). Puesto que HGF tiene actividad angiogénica, están implicados efectos secundarios relacionados con angiogénesis. Además, se ha notificado que la hormona del crecimiento (GH) actúa en el hígado, y estimula la producción de Factor de Crecimiento de tipo Insulina 1 (IGF-1) para inducir de este modo la actividad de proliferación de hepatocitos (Bibliografía no Patente 5, Bibliografía no Patente 6), e induce HGF actuando IGF-1 en los hepatocitos (Bibliografía no Patente 7), pero no hay ningún trabajo en el que se estudie el efecto terapéutico de GH para hepatopatía. Además, se han reconocido efectos secundarios tales como edema, y deterioro de la resistencia a la insulina. Además, se ha mostrado que la insulina y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Bibliografía no Patente 8) y Factor de Crecimiento Transformante α (TGF- α) (Bibliografía no Patente 9) también tienen actividad de proliferación de hepatocitos (captación de timidina en ADN), pero su efecto en la mejora de hepatopatía no está claro.

Por otro lado, la ghrelina es un péptido que consiste en 28 restos aminoacídicos que se encontraron en el estómago, y el resto de serina en la posición 3 se modifica con un grupo octanoílo (Bibliografía de Patentes 1). Se muestra que la ghrelina actúa en el Receptor de Secretagogo de la Hormona del Crecimiento (GHS-R) (Bibliografía no Patente 10) y es una hormona cerebro-intestinal endógena que estimula la secreción de GH de la hipófisis (Bibliografía no Patente 11), y recientemente se ha mostrado adicionalmente en ratones o ratas que la ghrelina estimula el apetito y, por administración subcutánea, la ghrelina aumentó el peso corporal y la grasa corporal (Bibliografía no Patente 12, Bibliografía no Patente 13, Bibliografía no Patente 14). Sin embargo, no se conoce que la ghrelina se use como un agente para prevenir o tratar hepatopatía.

Bibliografía no Patente 1: "Internal drug Book 3" supervisado por Yuichi Murakami, Kazu Yoshimura, 1987, publicado por Nakayama-Shoten Co., Ltd.

Bibliografía no Patente 2: Matsuda *et al.*, "Preventive and therapeutic effects in rats of hepatocyte growth factor infusion on liver fibrosis/cirrhosis", *Hepatology*, vol. 26, nº 1, p. 81-89 (1997).

Bibliografía no Patente 3: Takahiro Ueki *et al.*, "Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats", *Nature Drug*, vol. 5, p. 226-230 (1999).

Bibliografía no Patente 4: Hironori Taniguchi *et al.*, "Hepatic Fibrosis Suppression Mechanism of Interferon", *Advanced drug*, vol. 55, p.1803-1806 (2000).

Bibliografía no Patente 5: Asakawa *et al.*, *Journal of Endocrinology Investment*, vol.12, p. 343-347 (1989).

Bibliografía no Patente 6: Ekberg *et al.*, *Journal of Endocrinology*, vol.135, p. 59-67 (1992).

Bibliografía no Patente 7: Skrtic *et al.*, *Endocrinology*, vol. 138, p. 4683-4689 (1997).

Bibliografía no Patente 8: Richman *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences, Estados Unidos*, vol. 73, p. 3589-3593 (1976).

Bibliografía no Patente 9: E. M. Webber *et al.*, "In vivo response of hepatocytes to growth factors requires an initial priming stimulus", *Hepatology*, vol.19, nº 2. p. 489-497 (1994)

Bibliografía no Patente 10: Andrew D. Howard *et al.*, "A Receptor in Pituitary and Hypothalamus That Functions in Growth Hormone Release", *Science*, vol. 273, p. 974-977 (1996).

Bibliografía no Patente 11: Masayasu Kojima *et al.*, "Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach", *Nature*, vol. 402, p. 656-659 (1999).

Bibliografía no Patente 12: Wren *et al.*, *Endocrinology*, vol. 141, p. 4325-4328 (2000).

Bibliografía no Patente 13: Masamitsu Nakazato *et al.*, "A role for ghrelin in the central regulation of feeding", *Nature*, vol. 409, p. 194-198 (2001).

Bibliografía no Patente 14: Mitsuyo Shintani *et al.*, "Ghrelin, an Endogenous Growth Hormone Secretagogue, Is a Novel Orexigenic Peptide That Antagonizes Leptin Action Through the Activation of Hypothalamic Neuropeptide Y/Y1 Receptor Pathway", *Diabetes*, vol. 50, p. 227-232 (2001).

Bibliografía de Patentes 1: documento WO 01/07475

El documento WO 01/56592 describe el uso de ligandos de GHS-R1A, incluyendo ghrelina, para el tratamiento de residuos asociados con diversas afecciones incluyendo enfermedad crónica del hígado.

Dongahy *et al.*, *Gastroenterology* 113, 1617-1622 (1997); Wallace *et al.*, *J. Clin. Endocrin. & Metab.* 87(6), 2751-2759 (2002) y Assy *et al.*, *Hepatology* 27, 796-802 (1997) describe el uso de hormona de crecimiento en el tratamiento de hepatopatía.

El documento WO 01/92292 describe diversos análogos de ghrelina.

Descripción de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un fármaco que tenga una actividad promotora de la proliferación de hepatocitos que pueda usarse como un agente para promover la regeneración hepática y la recuperación de la función hepática después de hepatectomía.

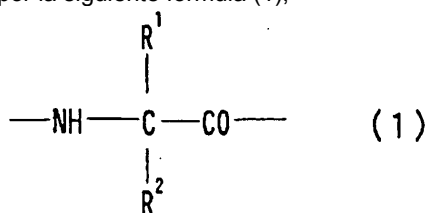
Para conseguir el objeto anteriormente mencionado, los presentes inventores han estudiado de forma exhaustiva y

han obtenido hallazgos de que un derivado polipeptídico que tiene una actividad de unión a GHS-R y que eleva de este modo la concentración de ion cálcico intracelular tiene efectos de prevención, alivio de la progresión de, o tratamiento de, enfermedades hepáticas tales como hepatitis, cirrosis hepática e insuficiencia hepática. Además, los presentes inventores han descubierto que tales derivados polipeptídicos tienen una actividad de promoción de la proliferación de hepatocitos y, como resultado, son útiles para detener la reducción de la función hepática después de operación del hígado, evitar una función hepática anómala o recuperar la regeneración y función hepática. Los presentes inventores han estudiado adicionalmente y completado la presente invención.

Los siguientes puntos se incluyen en este documento:

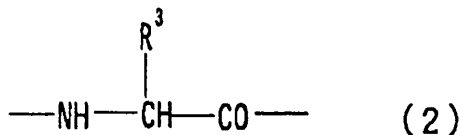
(1) un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía que comprende, como un ingrediente eficaz, un derivado polipeptídico que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, y que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoácido primero a cuarto desde el extremo amino terminal de dicha secuencia de aminoácidos, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(2) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (1), en el que el derivado polipeptídico es un derivado polipeptídico en el que, en una secuencia de aminoácidos polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22 y una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoácido primero a cuarto en dichas secuencias de aminoácidos, el segundo o tercer resto aminoácido desde el extremo amino terminal tiene un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



{en la que R^1 y R^2 son iguales o diferentes, y representan $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P^1 representa $-\text{CO}-$, SO_2- , $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{CO}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CS}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$, $-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-\text{CS}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS}-$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^1 representa un átomo de hidrógeno, y un grupo alquilo C_{1-35} opcionalmente sustituido, un grupo alquenilo C_{2-35} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alquilenilo C_{1-6} - cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-Q^1$ (en la que Q^1 es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R^1 y R^2 es Q^1 , el otro representa $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 , P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente)}, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(3) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (2), en el que el segundo o tercer resto aminoácido desde el extremo amino terminal tiene un grupo representado por la fórmula (2);



{en la que R^3 representa $-T^2-P^2-Q^2$ (en la que T^2 representa un grupo alquilenilo C_{1-6} , un grupo alquenileno C_{2-6} o un grupo alquilenilo C_{1-4} -fenileno, P^2 representa $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CO}-$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^2 representa un grupo alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido, un grupo alquenilo C_{2-20} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alquilenilo C_{1-6} - cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), o $-P^2-Q^2$ (en la que P^2 y Q^2 son iguales a lo definido anteriormente)},

(4) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (3), en el que en T^2 es un grupo alquilenilo C_{1-6} , P^2 es $-\text{O}-\text{CO}-$, y Q^2 es un grupo alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido,

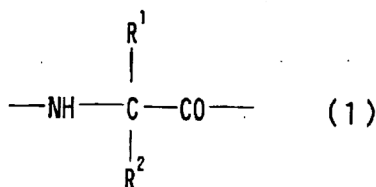
(5) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (4), en el que T^2 es metileno o etileno, P^2 es $-\text{O}-\text{CO}-$, y Q^2 es un grupo alquilo C_{1-20} ,

(6) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (5), en el que Q^2 es un grupo alquilo C_7 ,

(7) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (2) a (6), en el que las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID Nos 1 a 22 son cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID Nos 1 a 10 o 22,

(8) un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía que comprende, como un ingrediente eficaz, un derivado polipeptídico representado por la fórmula (3); X-Y-Z (en la que X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoacídico, un dipéptido o un tripéptido, que comprende una o más clases de átomos seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, O, N y S,

Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);

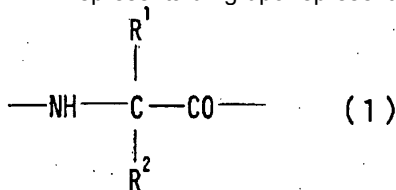


{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ - cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente),

Z representa un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo}, y tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(9) un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía que comprende, como un ingrediente eficaz, un derivado polipeptídico en el que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en secuencias de aminoácidos representadas por la SEQ ID Nos 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial, se unen a un derivado polipeptídico representado por la siguiente fórmula (3); X-Y-Z (en la que X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoacídico, un dipéptido o un tripéptido, y que comprende una o más clases de átomos seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, O, N y S,

Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



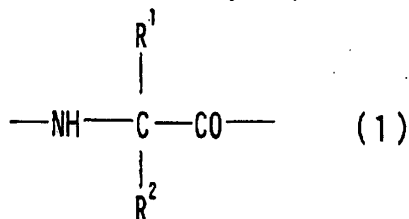
{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ - cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente) con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente),

Z representa un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo}, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(10) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (8) o (9), en el que X está representado por la fórmula (4); H₂N-X¹-CO- (X¹ representa un grupo alqueno C₄ que opcionalmente tiene un sustituyente o un grupo orgánico en el que al menos un átomo de carbono del grupo alqueno C₄ está sustituido con O, N o S),

(11) un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía que comprende, como un ingrediente eficaz, un derivado polipeptídico representado por la fórmula (5); A-B-C-D (en la que A y D son un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo,

5 uno o ambos de B y C representan un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



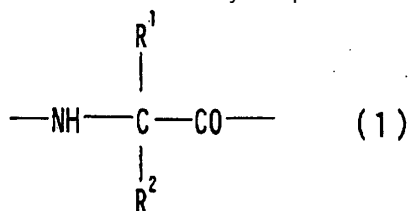
{en la que R^1 y R^2 son iguales o diferentes, y representan $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P^1 representa $-\text{CO}-$, SO_2- , $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{CO}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CS}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$, $-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-\text{CS}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS}-$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C_{1-35} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{2-35} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{1-6} - cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-Q^1$ (en la que Q^1 es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R^1 y R^2 es Q^1 , el otro representa $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 , P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente),

cuando solo uno de B y C es un resto aminoacídico representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo},

10 y tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(12) un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía que comprende, como un ingrediente eficaz, un derivado polipeptídico en el que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 12, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están deletionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial, se unen a un derivado polipeptídico representado por la fórmula (5); A-B-C-D [en la que A y D son un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo,

25 uno o ambos de B y C representan un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



{en la que R^1 y R^2 son iguales o diferentes, y representan $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 representa un grupo hidrocarburo divalente de un número de carbono de 1 a 20, P^1 representa $-\text{CO}-$, SO_2- , $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{CO}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CS}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$, $-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-\text{CS}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS}-$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C_{1-35} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{2-35} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{1-6} - cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-Q^1$ (en la que Q^1 es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R^1 y R^2 es Q^1 , el otro representa $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 , P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente)}, y cuando solo uno de B y C es un resto aminoacídico representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo], y tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

45 (13) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (12), en el que un aminoácido básico está unido adicionalmente al extremo carboxilo terminal,

(14) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (13), en el que el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma una sal, éster o amida,

50 (15) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (14), en el que la

hepatopatía es una o más enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en hepatitis, cirrosis del hígado e insuficiencia hepática,

5 (16) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (15), en el que la hepatitis es una o más enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en hepatitis vírica, hepatitis alcohólica, hepatitis inducida por fármacos y hepatitis autoinmune,

10 (17) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (14), que es un agente para promover la regeneración hepática y recuperar la función hepática después de la hepatectomía,

(18) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (14), en el que la hepatopatía es una enfermedad que aparece después del trasplante de hígado, o

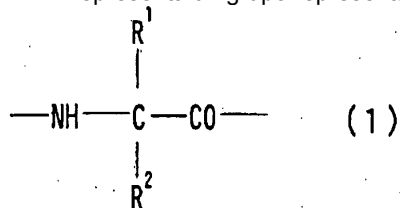
15 (19) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (18), en el que la dosis por día es de 0,001 a 100 mg.

Además, se describen los siguientes puntos en este documento:

20 (20) un método para tratar hepatopatía, que comprende administrar a un mamífero, incluyendo seres humanos, un derivado polipeptídico que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, en el que el derivado polipeptídico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22, o la secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están deletados, sustituidos o añadidos a los restos aminoacídicos distintos del primero al cuarto de dichos restos aminoacídicos en el extremo amino terminal en dicha secuencia de aminoácidos, o una sal del mismo,

25 (21) un método para tratar hepatopatía, que comprende administrar a un mamífero, incluyendo seres humanos, un derivado polipeptídico que está representado por la fórmula (3); X-Y-Z [en la que X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoacídico, un dipéptido o un tripéptido, y que comprende una o más clases de átomos seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, O, N y S,

Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



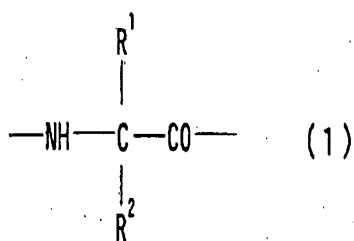
35 {en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, S-CS-, -S- -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ - cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente) con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente)),

Z representa un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo],

45 y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

50 (22) un método para tratar hepatopatía, que comprende administrar a un mamífero, incluyendo seres humanos, un derivado polipeptídico en el que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están deletados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial, se unen a un derivado polipeptídico representado por la fórmula (3); X-Y-Z (en la que X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoacídico, un dipéptido o un tripéptido, y que comprende una o más clases de átomos seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, O, N y S,

Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



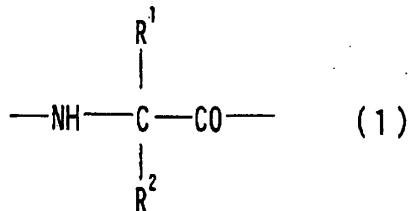
{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente) con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente),

Z representa un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo}}, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo.

(23) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con (21) o (22), en el que X está representado por la fórmula (4); H₂N-X¹-CO- (X¹ representa un grupo alqueno C₄ que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo orgánico en el que al menos un átomo de carbono del grupo alqueno C₄ está sustituido con O, N o S),

(24) un método para tratar hepatopatía, que comprende administrar a un mamífero, incluyendo seres humanos, un derivado polipeptídico representado por la fórmula (5); A-B-C-D {en la que A y D son un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo,

uno o ambos de B y C representan un grupo representado por la siguiente fórmula (1);

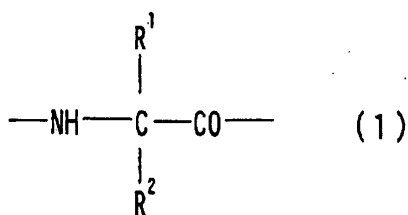


{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de un número de carbono de 1 a 20, P¹ representa -CO-, SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ - cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente),

cuando solo uno de B y C es un resto aminoacídico representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo}}, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(25) un método para tratar hepatopatía, que comprende administrar a un mamífero, incluyendo seres humanos, un derivado polipeptídico en el que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos desde el quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están deletionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial se unen a un derivado polipeptídico representado por la fórmula (5); A-B-C-D {en la que A y D son un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo,

uno o ambos de B y C representan un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



en la que R^1 y R^2 son iguales o diferentes, y representan $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 representa un grupo hidrocarburo divalente de un número de carbono de 1 a 20, P^1 representa $-\text{CO}-$, SO_2- , $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{CO}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CS}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$, $-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-\text{CS}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS}-$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C_{1-35} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{2-35} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{1-6} - cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente), o $-Q^1$ (en la que Q^1 es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R^1 y R^2 sea Q^1 , el otro representa $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 , P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente),

cuando solo uno de B y C es un resto aminoácido representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo}}, y tiene actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo,

(26) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (20) a (35), en el que un aminoácido básico está unido adicionalmente al extremo carboxilo terminal,

(27) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (20) a (26), en el que el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma una sal, éster o amida,

(28) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con cualquiera de (20) a (27), en el que la hepatopatía es una o más enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en hepatitis, cirrosis del hígado e insuficiencia hepática,

(29) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con (28), en el que la hepatitis es una o más enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en hepatitis vírica, hepatitis alcohólica, hepatitis inducida por fármacos y hepatitis autoinmune,

(30) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (20) a (27), que es un agente para promover la regeneración y la recuperación de la función hepática después de hepatectomía,

(31) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (20) a (27), en el que la hepatopatía es una enfermedad que aparece después del trasplante de hígado, o

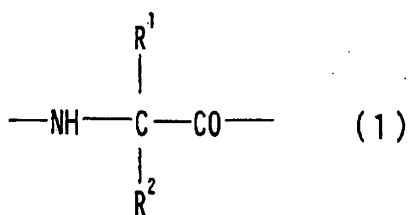
(32) el método para tratar hepatopatía de acuerdo con uno cualquiera de (20) a (31), en el que la dosis por día es de 0,001 a 100 mg.

Además, se describen los siguientes puntos en este documento

(33) uso de un derivado polipeptídico que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, y que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoácido primero a cuarto desde el extremo amino terminal en dicha secuencia de aminoácidos, o una sal del mismo, para preparar un medicamento para prevenir o tratar hepatopatía,

(34) uso de un derivado polipeptídico de un polipéptido representado por la fórmula (3); X-Y-Z {en la que X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoácido, un dipéptido o un tripéptido, y que comprende una o más clases de átomos seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, O, N y S,

Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);

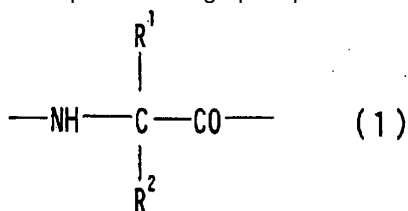


[en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, -SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente)],

Z representa un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo), y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, para preparar un medicamento para prevenir o tratar hepatopatía,

(35) uso de un derivado polipeptídico en el que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o la secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están deletados o sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parciales unen a un derivado polipeptídico representado por la fórmula (3); X-Y-Z {en la que X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoácido, un dipéptido o un tripéptido, y que comprende una o más clases de átomo seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, O, N y S,

Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



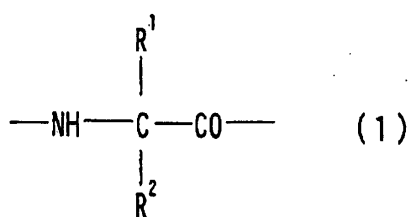
{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y -T¹-P¹-Q¹ representa (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, -SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que, cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente),

Z representa un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo], y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable, para preparar un medicamento para prevenir o tratar hepatopatía,

(36) el uso de acuerdo con (34) o (35), en el que X está representado por la fórmula (4); H₂N-X¹-CO- (X¹ representa un grupo alqueno C₄ que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo orgánico, en el que al menos un átomo de carbono del grupo alqueno C₄ está sustituido con O, N o S),

(37) uso de un derivado polipeptídico representado por la fórmula (5); A-B-C-D (en la que A y D son un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo,

uno o ambos de B y C están representados por la siguiente fórmula (1);



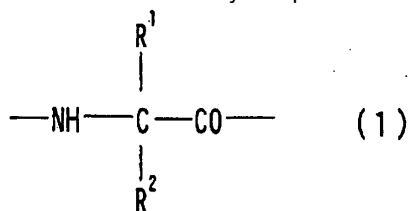
5 {en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, -SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R¹ y R² sea Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente),

10 cuando solo uno de B y C es un resto aminoácido representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo},

15 y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, elevar la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable, para preparar un medicamento para prevenir o tratar hepatopatía,

20 (38) uso de un derivado polipeptídico en el que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno o varios aminoácidos están deletados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial, se unen a un derivado polipeptídico representado por la fórmula (5); A-B-C-D (en la que A y D son un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo,

25 uno o ambos de B y C representan un grupo representado por la siguiente fórmula;



30 {en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, -SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente)

35 cuando solo uno de B y C es un resto aminoácido representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoácido natural o un isómero óptico del mismo}, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable, para preparar un medicamento para prevenir o tratar hepatopatía,

40 (39) el uso de acuerdo con una cualquiera de (34) a (38), en el que un aminoácido básico está unido adicionalmente al extremo carboxilo terminal,

45 (40) el uso de acuerdo con una cualquiera de (34) a (39), en el que el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma una sal, éster o amida,

50 (41) el uso de acuerdo con una cualquiera de (34) a (40), en el que la hepatopatía es una o más enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en hepatitis, cirrosis del hígado e insuficiencia hepática,

(42) el uso de acuerdo con (41), en el que la hepatitis es una o más enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en hepatitis vírica, hepatitis alcohólica, hepatitis inducida por fármacos y hepatitis autoinmune,

5 (43) el uso de acuerdo con una cualquiera de (34) a (40), que es un agente para promover la regeneración y la recuperación de la función hepática después de la hepatectomía,

(44) el uso de acuerdo con uno cualquiera de (34) a (40), en el que la hepatopatía es una enfermedad que aparece después del trasplante de hígado, o

10 (45) el uso de acuerdo con uno cualquiera de (34) a (44), en el que la dosis por día es de 0,001 a 100 mg.

Además, se describen los siguientes puntos.

15 (46) un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía, que comprende un derivado polipeptídico que tiene una actividad para unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, y que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoacídico primero a cuarto desde el extremo amino terminal en dicha secuencia de aminoácidos, o una sal farmacológicamente aceptable,

20 (47) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (46), en el que el derivado polipeptídico es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es el resto aminoacídico primero a cuarto desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22,

25 (48) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (46), en el que el derivado polipeptídico es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es el resto aminoacídico del primer al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno o varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoacídico primero al cuarto desde el extremo amino terminal en dicha secuencia de aminoácidos que comprende diez restos aminoacídicos,

30 (49) el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de acuerdo con (46), en el que el derivado polipeptídico es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es el resto aminoacídico del primer al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que de uno o varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoacídico primero a cuarto desde el extremo amino terminal en dicha secuencia de aminoácidos que comprende 15 restos aminoacídicos.

35 Además, en este documento se describe un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía que comprende, como un ingrediente eficaz, (a) un derivado polipeptídico en el que un resto aminoacídico en la segunda y tercera posición desde el extremo amino terminal en la secuencia de aminoácidos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, (b) un derivado polipeptídico en el que un resto aminoacídico en la segunda o tercera posición desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos del primer al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, (c) un derivado polipeptídico en el que un resto aminoacídico en la segunda o tercera posición desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID Nos: 1 a 22 tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, (d) un derivado polipeptídico en el que un resto aminoacídico en la segunda o tercera posición desde el extremo amino terminal en la secuencia de aminoácidos del primero al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal, en el que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en el resto o restos aminoacídicos distintos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, o (e) un derivado polipeptídico en el que un resto amino en la segunda o tercera posición desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal, en el que de uno a varios aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en el resto o restos aminoacídicos distinto del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, o un método para tratar hepatopatía, que comprende administrar un derivado polipeptídico de acuerdo con uno cualquiera de (a) a (e) a un

mamífero, incluyendo seres humanos, o el uso de un derivado polipeptídico de acuerdo con uno cualquiera de (a) a (e) o una sal farmacológicamente aceptable para preparar medicamentos para prevenir o tratar hepatopatía.

La invención se refiere a la materia objeto de las reivindicaciones 1-9.

5

Breve explicación de los dibujos

La Fig. 1 muestra un diagrama de flujo del Ejemplo 1.

10 La Fig. 2 muestra una curva de supervivencia de un grupo al que se administró solución salina fisiológica, un grupo al que se administraron 3 µg/kg de grelina, y un grupo al que se administraron 30 µg/kg de grelina en el Ejemplo 1.

15 La Fig. 3 muestra una fotografía con microscopio óptico de hepatocitos de rata inmunoteñidos con la proteína ki-67. A es una fotografía de un grupo al que se administró solución salina fisiológica y B es una fotografía de un grupo al que se administró grelina.

Mejor modo para realizar la invención

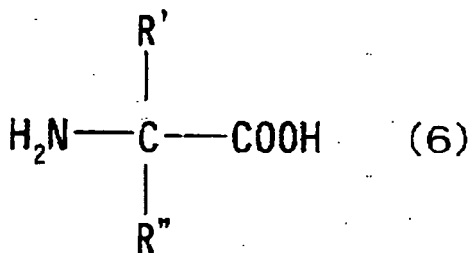
En la explicación de la presente invención, los siguientes términos se definen como sigue:

20

“Aminoácido” es un compuesto que tiene un grupo amino y un grupo carboxilo en la misma molécula y, por ejemplo, incluye todos los aminoácidos tales como la forma de D de los aminoácidos naturales, aminoácidos β y aminoácidos γ, además de los aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales descritos a continuación.

25 “Aminoácido natural” se refiere a 20 clases de aminoácidos codificados por genes.

“Aminoácido no natural” incluye compuestos en los que el átomo de carbono en los aminoácidos α está modificado. Es decir, los ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen compuestos representados por la siguiente fórmula (6);



30

(R' y R'' pueden ser iguales o diferentes, y representan un sustituyente arbitrario que no está presente en los aminoácidos naturales, o un átomo de hidrógeno, con la condición de que tanto R' como R'' no sean un átomo de hidrógenos simultáneamente). Los aminoácidos no naturales pueden ser de la forma L o la forma D.

35 “Grupo alquilo” significa un grupo alquilo lineal, cíclico o ramificado, “grupo alquilo C₁₋₃₅” significa un grupo alquilo lineal, cíclico o ramificado que tiene de 1 a 35 átomos de carbono, “grupo alquilo C₁₋₂₀” significa un grupo alquilo lineal, cíclico o ramificado que tiene de 1 a 20 átomos de carbono y los ejemplos de dichos grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, ciclobutilo, pentilo, isopentilo, terc-pentilo, neopentilo, ciclopentilo, 1-metilbutilo, hexilo, isohexilo, ciclohexilo, 3,3-dimetilbutilo, heptilo, cicloheptilo, 1-metilciclohexilo, 1-proplibutilo, octilo, 1-metilheptilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo y nonadecilo. “Grupo alquilo C₁₋₆” significa un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, terc-pentilo, neopentilo, 1-metilbutilo, hexilo, isohexilo y 1-metilpentano, “grupo alquilo C₁₋₄” significa un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo, “grupo alquilo C₁₋₁₆” significa un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de 1 a 16 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, terc-pentilo, neopentilo, 1-metilbutilo, hexilo, isohexilo, 1-metilpentano, 3,3-dimetilbutilo, heptilo, 1-propilbutilo, octilo, 1-metilheptilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo y hexadecilo y “grupo cicloalquilo C₃₋₈” significa un grupo hidrocarburo cíclico que tiene de 3 a 8 átomos de carbono, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo,

50

“Grupo alquileno” significa un grupo alquileno lineal o ramificado que tiene de 1 a 20 átomos de carbono y los ejemplos de los grupos alquileno incluyen metileno, etileno, trimetileno, tetrametileno, pentametileno, hexametileno, heptametileno, octametileno, decametileno, dodecametileno y nonadecametileno. “Alquino C₁₋₆” significa un grupo hidrocarburo divalente lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, tal como metileno, etileno, trimetileno, tetrametileno, pentametileno y hexametileno.

55

“Grupo alquencileno” significa un grupo alquencileno lineal o ramificado que tiene de 2 a 20 átomos de carbono y “alquencileno C₂₋₆” significa un grupo hidrocarburo divalente lineal o ramificado, tal como vinileno, propenileno, 1-butenileno, 2-butenileno, 1-pentenileno, 2-pentenileno y 3-pentenileno.

5 “Grupo alquinileno” significa un grupo alquinileno que tiene de 2 a 20 átomos de carbono, y “alquinileno C₂₋₆” significa un grupo hidrocarburo divalente lineal o ramificado tal como etileno, propinileno, 1-butilileno, 2-butilileno, 1-pentinileno, 2-pentinileno y 3-pentinileno.

10 “Grupo alquencilo” significa un grupo alquencilo lineal o ramificado que tiene de 2 a 20 átomos de carbono. Los ejemplos de los grupos alquencilo incluyen vinilo, alilo, n-propenilo, isopropenilo, n-butenilo, isobutenilo, sec-butenilo, terc-butenilo, n-pentenilo, isopentenilo, neopentenilo, 1-metilpropenilo, n-hexenilo, isohexenilo, 1,1-dimetilbutenilo, 2,2-dimetilbutenilo, 3,3-dimetilbutenilo, 3,3-dimetilpropenilo, 2-etilbutenilo, heptenilo, octenilo y heptadecenilo.

15 “Grupo arilo” significa un anillo carbocíclico aromático o sistema de anillo que incluye fenilo, 1- o 2-naftilo, bifenilo, 1-, 2- o 9-antrilo, 1-, 2-, 3-, 4- o 9-fenantrilo, acenaftilo, antraceno y azuleno .

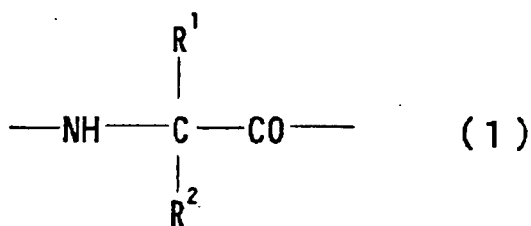
20 “Grupo aralquilo” significa un grupo aralquilo monocíclico que tiene de 7 a 16 átomos de carbono. Los ejemplos de los grupos aralquilo incluyen bencilo, p-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, o-nitrobencilo, p-nitrobencilo, benzhidrilo, tritilo, metilnaftilo y etilfenilo.

25 Como un derivado polipeptídico que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, elevar la concentración de ión calcio intracelular y se selecciona entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22, un derivado polipeptídico que contiene (i) una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (no más de 5)] aminoácidos están delecionados en una posición distinta del primero al cuarto resto aminoacídico desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, (ii) una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (no más de 5)] aminoácidos están añadidos en una posición distinta de la primera a la cuarta posición desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, (iii) una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (no más de 5)] aminoácidos distintos del primero al cuarto resto aminoacídico desde el extremo amino terminal están sustituidos con otros aminoácidos en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 o (iv) una secuencia de aminoácidos que tiene una combinación de los mismos puede usarse. El aminoácido a añadir en (ii) y el aminoácido a sustituir en (iii) puede ser un aminoácido no natural. Es más preferible que el derivado polipeptídico descrito en (i) a (iv) tenga una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleven la concentración de ión calcio intracelular o una actividad para inducir la secreción de hormona de crecimiento por unión a GHS-R.

40 Como alternativa, puede usarse un péptido en el que una secuencia parcial de aminoácidos está delecionada preferentemente en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22. Los ejemplos de dichos péptidos incluyen (v) un péptido que comprende del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal en la secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, (vi) un péptido que comprende del primero al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, y (vii) un péptido que comprende del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22.

45 Como alternativa, (viii) puede usarse un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (no más de 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en los restos aminoacídicos distintos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal como se ha descrito anteriormente en una secuencia de aminoácidos que comprende del primero al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal de las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o (iv) un péptido que comprende secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (no más de 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en los restos aminoacídicos distintos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal como se ha descrito anteriormente, en una secuencia de aminoácidos que comprende del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal de las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22. Un aminoácido a añadir o sustituir puede ser un aminoácido no natural. Es más preferible que un péptido descrito en (viii) o (ix), tenga una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleve la concentración de ión calcio intracelular.

60 Como el derivado polipeptídico, un ejemplo preferible de un derivado polipeptídico (en lo sucesivo en este documento denominado derivado polipeptídico I) en el que, en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, el segundo o tercer resto aminoacídico desde el extremo amino terminal tiene un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



5 {en la que R^1 y R^2 son iguales o diferentes, y representan $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 representa un grupo hidrocarburo divalente de un número de carbono de 1 a 20, P^1 representa $-\text{CO}-$, $-\text{SO}_2-$, $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{CO}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{CS}-$, $-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$, $-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-\text{CO}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-\text{CS}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CS}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS}-$ (R^4 representa un átomo de carbono o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^1 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C_{1-35} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{2-35} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C_{1-6} cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente) o $-Q^1$ (en la que Q^1 es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R^1 y R^2 sea Q^1 , el otro represente $-T^1-P^1-Q^1$ (en la que T^1 , P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente), o $-P^1-Q^1$ (en la que P^1 y Q^1 son iguales a lo definido anteriormente)} y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, elevar la concentración de ión calcio intracelular.

15 Los ejemplos del "grupo hidrocarburo divalente" representado por T^1 incluyen un grupo hidrocarburo divalente, tal como un grupo alqueno lineal o ramificado que tiene de 1 a 20 átomos de carbono, preferentemente de 1 a 10 átomos de carbono, preferentemente adicionalmente de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alqueno lineal o ramificado que tiene de 2 a 20 átomos de carbono, un grupo alqueno lineal o ramificado que tiene de 2 a 20 átomos de carbono, un grupo fenileno y una combinación de los mismos (por ejemplo, alqueno C_{1-6} fenileno, fenileno-alqueno C_{1-6} , alqueno C_{1-6} -fenileno-alqueno C_{1-4} , etc.). Entre ellos, un grupo alqueno C_{1-6} , un grupo alqueno C_{2-6} , un grupo alqueno C_{2-6} , un grupo fenileno, y un grupo alqueno C_{1-4} -fenileno son preferibles. Entre otros, es preferible un grupo alqueno C_{1-6} .

25 El "grupo hidrocarburo divalente" puede tener un sustituyente. Los ejemplos de los sustituyentes que puede llevar el "grupo hidrocarburo divalente" incluyen un grupo alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido [un grupo alquilo opcionalmente sustituido con un grupo hidroxilo, tiol (por ejemplo, mercapto, metiltio, etc.), un grupo aralquilo C_{7-16} , un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido (por ejemplo, fenilo, naftilo, hidroxifenilo, etc.), un heterociclo (por ejemplo, indol, imidazol, etc.), carboxilo, amino o con guanidino, o un grupo alquilo no sustituido], un grupo aralquilo C_{7-16} , un grupo arilo C_{6-14} , y un grupo hidroxilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, un grupo hidroxilo opcionalmente sustituido con un grupo hidrocarburo; preferentemente un grupo hidroxilo opcionalmente sustituido con un grupo alquilo C_{1-6} , un grupo hidroxilo no sustituido) entre los cuales es preferible un grupo alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido. La posición y el número de sustituyentes no están particularmente limitados siempre y cuando sean químicamente aceptables. El número de sustituyentes es preferentemente de aproximadamente 1 a 4. Los ejemplos de los sustituyentes para el "grupo fenileno" incluyen de uno a cuatro miembros seleccionados entre un átomo de halógeno (por ejemplo, flúor, cloro, bromo, yodo, etc.), un grupo alquilo C_{1-4} , un grupo alcoxi C_{1-4} (por ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, etc.), un grupo alquiltio C_{1-4} , un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo amino, un grupo mono o di-alquil C_{1-4} amino, un grupo mercapto, un grupo acilo C_{1-4} (por ejemplo, formilo, acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, etc.), un grupo alcoxi carbonilo C_{2-5} , un grupo sulfato ($-\text{SO}_3\text{H}$), un grupo alquil C_{1-4} sulfonilo, un grupo carbamoilo, y un grupo mono o dialquil C_{2-5} carbamoilo (por ejemplo, N-metilcarbamoilo, N-etilcarbamoilo, N,N-dimetilcarbamoilo, N,N-diethylcarbamoilo, etc.).

40 Como un grupo representado por P^1 , es preferible $-\text{CO}-\text{O}-$, $-\text{O}-\text{CO}-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{CO}-\text{NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CO}-$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y $-\text{O}-\text{CO}-$ es particularmente preferible.

45 Como el "grupo alquilo" representado por Q^1 , es preferible un grupo alquilo C_{1-20} lineal o ramificado. Más preferentemente, es preferible un grupo alquilo C_{1-16} lineal o ramificado y, entre otros, es preferible un grupo alquilo C_7 .

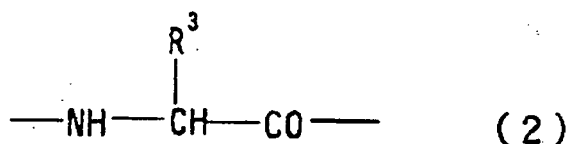
Como el "grupo alqueno" representado por Q^1 , es preferible un grupo alqueno C_{2-20} lineal o ramificado.

50 Los ejemplos de los sustituyentes que el "grupo alquilo" o el "grupo alqueno" representado por Q^1 pueden llevar incluyen un átomo de halógeno; un grupo carboxilo; un grupo hidroxilo; un grupo amino; un grupo nitro; un grupo ciano; un grupo alcoxi C_{1-6} tal como metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentiloxi y hexiloxi; un grupo aralquilo C_{7-16} tal como formiloxi, acetoxi y propioniloxi; un grupo alcoxi C_{2-7} carbonilo, tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo y propoxicarbonilo; un grupo arilo C_{6-14} ; un grupo alquil C_{1-6} tio, tal como metiltio, etiltio, propiltio, butiltio e isobutiltio; un grupo alquil C_{1-6} sulfonilo, tal como metilsulfonilo y etilsulfonilo; un grupo alquil C_{1-6} sulfonilo, tal como metilsulfonilo y etilsulfonilo; un grupo alquil C_{1-6} amino, tal como metilamino, etilamino, propilamino y butilamino; un grupo acilamino, tal como acetamida y propionilamida. El número de sustituyentes es de aproximadamente 1 a 5, preferentemente de aproximadamente 1 a 3.

Los ejemplos de los sustituyentes en el "grupo cicloalquilo", "grupo arilo" o "grupo aralquilo" opcionalmente sustituido representados por Q^1 incluyen un grupo alquilo C_{1-6} ; un grupo hidroxilo; un grupo alcoxi C_{1-6} tal como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, pentiloxi y hexiloxi, un átomo de halógeno tal como flúor, cloro y bromo; un grupo nitro; un grupo ciano, un grupo acilo C_{1-6} ; un grupo aciloxi C_{1-6} , tal como formiloxi, acetoxi y propioniloxi; un grupo mercapto; un grupo alquil C_{1-6} tio, tal como metiltio, etiltio, propiltio, butiltio e isobutiltio; un grupo amino; un grupo alquil C_{1-6} amino, tal como metilamino, etilamino, propilamino y dibutilamino; un grupo di-alquil C_{1-6} amino, tal como dimetilamino, dietilamino, dipropilamino y dibutilamino; un grupo carboxi; un grupo alcoxi C_{2-7} carbonilo, tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo y propoxicarbonilo; un grupo amido; un grupo alquilo halogenado, tal como trifluoro metilo; un grupo alquil C_{1-6} sulfonilo, tal como metilsulfonilo y etilsulfonilo; un grupo aminosulfonilo; un grupo cicloalquilo C_{3-7} ; un grupo acilamida tal como acetamida y propionilamida. La posición y el número de los sustituyentes no están particularmente limitados, siempre y cuando estén dentro de un intervalo químicamente aceptable. El número de sustituyentes preferentemente es de aproximadamente 1 a 3.

El "grupo alquileo C_{1-6} -cicloalquilo- C_{3-8} " representado por Q^1 es un sustituyente en el que el grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono y el grupo cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono están unidos juntos. Es preferible un alquileo C_{1-4} -fenileno. El sustituyente en el "grupo alquileo C_{1-6} -cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido" puede estar localizado en el resto del grupo alquilo C_{1-6} o el resto del grupo cicloalquilo C_{1-8} . Los ejemplos del sustituyente en el resto del grupo alquilo C_{1-6} incluyen los mismos sustituyentes que los sustituyentes del grupo alquilo, y los ejemplos de sustituyente en el resto del grupo cicloalquilo C_{3-8} incluyen los mismos sustituyentes que los sustituyentes del grupo cicloalquilo.

En el derivado polipeptídico I de la realización mencionada anteriormente, es más preferible que el segundo o tercer resto aminoacídico desde el extremo amino terminal tenga un grupo representado por la siguiente fórmula (2);



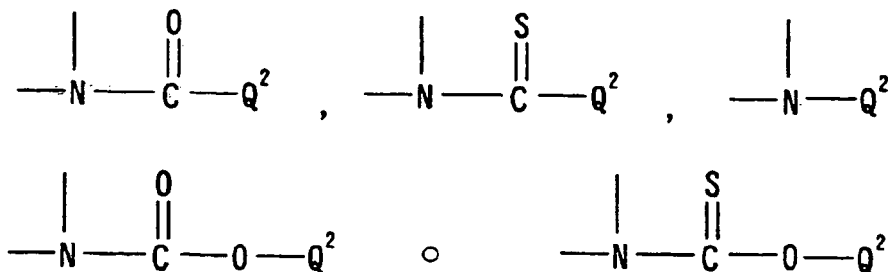
{en la que R^3 representa $-T^2-P^2-Q^2$ (en la que T^2 representa un grupo alquileo C_{1-6} , un grupo alquileo C_{2-6} , o un grupo alquileo C_{1-4} -fenileno, P^2 representa $-\text{CO-O-}$, $-\text{O-CO-}$, $-\text{O-}$, $-\text{S-}$, $-\text{S-S-}$, $-\text{CO-NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS-}$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y Q^2 representa un grupo alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido, un grupo alquileo C_{2-20} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alquileo C_{1-6} -cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido), o $-P^2-Q^2$ (en la que P^2 y Q^2 son iguales a lo definido anteriormente)}.

Cuando el sustituyente R^3 es $-T^2-P^2-Q^2$ en la fórmula (2), el sustituyente T^2 preferente es un grupo alquileo C_{1-6} o un grupo alquileo C_{1-4} -fenileno y, más preferentemente, metileno, etileno, propileno, butileno o metileno-fenileno.

Cuando el sustituyente R^3 es $-T^2-P^2-Q^2$ o $-P^2-Q^2$ en la fórmula (2), es preferible que el sustituyente P^2 sea $-\text{CO-O-}$, $-\text{O-CO-}$, $-\text{O-}$, $-\text{S-}$, $-\text{S-S-}$, $-\text{CO-NR}^4-$ o $-\text{NR}^4-\text{CS-}$ (R^4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_{1-4}), y el sustituyente Q^2 es un grupo alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido (preferentemente un grupo alquilo C_{1-16} , particularmente, preferiblemente un grupo alquilo C_7) o un grupo alquileo C_{2-20} opcionalmente sustituido, o el sustituyente P^2 es $-\text{O-}$ o $-\text{S-}$, el sustituyente Q^2 es un grupo alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido, un grupo alquileo C_{2-20} opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo alquileo C_{1-6} -cicloalquilo C_{3-8} opcionalmente sustituido, un grupo arilo C_{6-14} opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C_{7-16} opcionalmente sustituido. El sustituyente en el grupo representado por Q^2 es el mismo que el sustituyente en el grupo representado por Q^1 .

Como un resto aminoacídico que es el segundo o tercero desde el extremo amino terminal en el derivado polipeptídico I de la realización mencionada anteriormente, los siguientes restos aminoacídicos también son preferibles. En primer lugar, los ejemplos de dichos aminoácidos incluyen restos aminoacídicos en los que el grupo hidroxilo de un resto aminoacídico que tiene un grupo hidroxilo en la cadena lateral forma un éster, un tioéster o un éter. Específicamente, los ejemplos de dichos aminoácidos incluyen serina, treonina, tirosina y oxiprolina en los que el grupo hidroxilo en la cadena secundaria se convierte en un sustituyente representado por $-\text{OCO-Q}^2$, $-\text{OCS-Q}^2$ o $-\text{O-Q}^2$ (Q^2 es igual a lo definido anteriormente). En segundo lugar, los ejemplos de dichos aminoácidos incluyen restos aminoacídicos en los que el grupo mercapto de un resto aminoacídico que tiene un grupo mercapto en la cadena secundaria forma un tioéster, un tioéter o un disulfuro. Específicamente, el ejemplo de dichos aminoácidos incluye cisteína, en la que el grupo mercapto se ha convertido en un sustituyente representado por $-\text{SCO-Q}^2$, $-\text{SCS-Q}^2$, $-\text{S-Q}^2$ o $-\text{S-S-Q}^2$ (Q^2 es igual a lo definido anteriormente). Después, los ejemplos de dichos aminoácidos incluyen restos aminoácido en los que el grupo amino en la cadena secundaria de un resto aminoacídico que tiene un grupo amino en la cadena secundaria forma alquilamino, dialquilamino, amido o carbamoilo. Específicamente, los ejemplos de dichos aminoácidos incluyen lisina y arginina en los que un grupo amino en la cadena secundaria se convierte en un sustituyente representado por $\text{NR}^4-\text{CO-Q}^2$, $-\text{NR}^4-\text{CS-Q}^2$, $-\text{NH}(Q^2)$, $-\text{N}(Q^2)(Q^{21})$, $-\text{NR}^4-\text{CO-NR}^4-Q^2$, $-\text{NR}^4-\text{CS-NR}^4-Q^2$ (Q^2 y R^4 son iguales a lo definido anteriormente, Q^{21} puede ser igual a o diferente de Q^2 , y tiene el mismo significado que Q^2). Después, los ejemplos de dichos aminoácidos incluyen restos aminoacídicos en los que el grupo imina de

un resto aminoacídico que tiene un grupo imino en la cadena secundaria forma alquilamino, dialquilamino, amido o carbamoilo. Específicamente, los ejemplos de dichos aminoácidos son histidina, triptófano, prolina y oxiprolina, en los que el grupo imino en la cadena secundaria se ha convertido en un sustituyente representado por la siguiente fórmula;



5 (en la que Q² es igual a lo definido anteriormente).

Es más preferible que un resto aminoacídico que es el segundo o tercero desde el extremo amino terminal sea serina, treonina, tirosina u oxiprolina, en la que el grupo hidroxilo en la cadena secundaria se convierte, entre otros, en un sustituyente representado por -OCO-Q², -OCS-Q² o -O-Q² (Q² es como se ha definido anteriormente) o cisteína en la que un grupo mercapto en una cadena secundaria se convierte en un sustituyente representado por -SCO-Q², -SCS-Q², -S-Q² o -S-S-Q² (Q² es igual a lo definido anteriormente). Es preferible adicionalmente que un resto aminoacídico que es el segundo o tercero desde el extremo amino terminal sea serina en el que el grupo hidroxilo en la cadena secundaria se ha convertido en un sustituyente representado por -OCO-Q², -OCS-Q² o -O-Q² (Q² es igual a lo definido anteriormente), o cistina en la que el grupo mercapto en la cadena secundaria se ha convertido en un sustituyente representado por -SCO-Q² (Q² es igual a lo definido anteriormente). Es particularmente preferible que un resto aminoacídico que sea el segundo o tercero desde el extremo amino terminal se convierta en un sustituyente representado por -OCO-Q² (Q² es igual a lo definido anteriormente).

20 Como un resto aminoacídico que es el segundo o tercero desde el extremo amino terminal, preferentemente se ejemplifica un resto aminoacídico en el que el ácido graso está unido al grupo hidroxilo de la cadena secundaria a través de un enlace éster. En este caso, los ejemplos de aminoácidos que tienen un grupo hidroxilo en la cadena secundaria incluyen serina, treonina, tirosina y oxiprolina, entre otros, siendo preferible serina o treonina, y serina es particularmente preferible. Los ácidos grasos pueden estar sustituidos o no sustituidos, y el número de átomos de carbono de los mismos es preferentemente de 2 a 36, más preferentemente de 2 a 21, adicionalmente preferentemente de 2 a 17. Específicamente, los ejemplos de dichos ácidos grasos incluyen ácidos grasos saturados, tales como ácido acético, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido valérico (ácido pentanoico), ácido isovalérico, ácido pivalico, ácido caproico (ácido hexanoico), ácido octanoico (preferentemente ácido caprílico), ácido decanoico (preferentemente ácido cáprico), ácido dodecanoico (preferentemente ácido láurico), ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido araquídico y ácido ligrocérico, y ácidos grasos insaturados, tales como ácido sórbico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido ricinoleico, ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (BHA). Entre ellos, el ácido acético, ácido láctico, ácido caproico (ácido hexanoico), y ácido octanoico (preferentemente ácido caprílico) son preferibles. Entre ellos, el ácido octanoico es especialmente preferible.

35 Los ejemplos preferibles del derivado polipeptídico I incluyen un derivado polipeptídico en el que serina, treonina o leucina en la segunda o tercera posición desde el extremo amino terminal de las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, en grelina humana, o las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 que constituyen la grelina, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular.

45 Además, el derivado polipeptídico I puede ser un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos en la que, en la secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 que constituyen la grelina humana, 1 o 2 o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están deletionados, añadidos o sustituidos en los restos aminoacídicos distintos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o la secuencia de aminoácidos que comprende una combinación de los mismos, y el segundo o tercer resto aminoacídico desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular. En lo anterior, un aminoácido a añadir y/o un aminoácido a ser sustituido puede ser un aminoácido no natural.

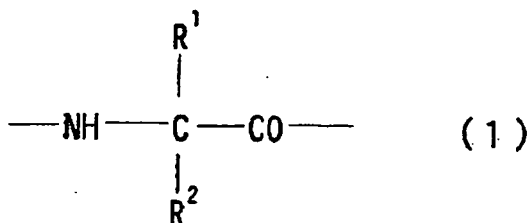
55 Además, en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 que constituyen la grelina humana, puede usarse también preferentemente (a) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, en las que el segundo o

tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, (b) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos del primero al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, en las que el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o (c) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, en las que el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular.

Además, en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, puede usarse preferentemente (d) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en el resto o restos aminoacídicos distintos del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal como se ha descrito anteriormente en una secuencia de aminoácidos del primero al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal, y el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, (e) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en el resto o restos aminoacídicos distintos del primer al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal como se ha descrito anteriormente en una secuencia de aminoácidos que comprende del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal, y el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente, y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular. Un aminoácido a añadir o un aminoácido a ser sustituido puede ser un aminoácido no natural.

Además, un derivado polipeptídico (en lo sucesivo en este documento denominado derivado polipeptídico II), que está representado por la fórmula (3); X-Y-Z (en la X representa un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoacídico, un dipéptido o un tripéptido, y que comprende una o más clases de átomos seleccionados del grupo que consiste en C, H, O, N y S,

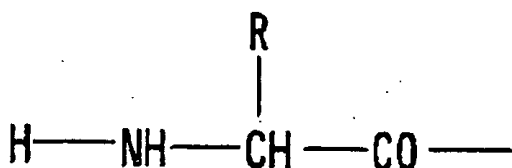
Y representa un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), Z representa un resto amino natural o un isómero óptico del mismo, y Q¹ es igual a lo definido anteriormente},

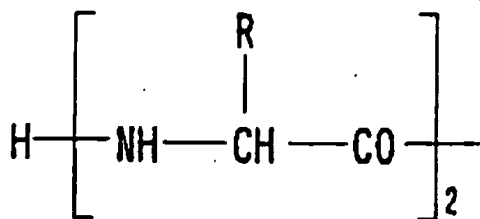
y que tiene una actividad de unión a GHS-R y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular.

En X de la fórmula (3) mencionada anteriormente, la longitud de la cadena molecular correspondiente al resto aminoacídico se refiere a un grupo orgánico que tiene una longitud de cadena molecular correspondiente a una longitud total de enlace N-C y enlace C-C que es una unidad peptídica de un resto aminoacídico representado por la fórmula;

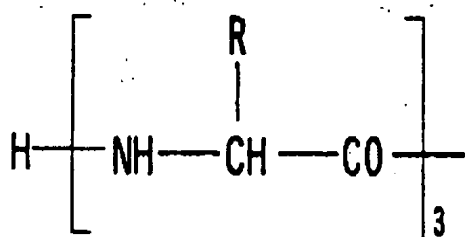


(R representa una cadena secundaria unida a un átomo de carbono α de un aminoácido natural). La longitud de la cadena molecular se refiere a una longitud que contiene una variación de aproximadamente ± 20%, preferentemente aproximadamente ± 10%, dependiendo del formato de unión de los átomos C, O, N y S que constituyen una longitud de cadena molecular.

La longitud de cadena molecular correspondiente a un dipéptido se refiere a una longitud de cadena molecular correspondiente a una unidad peptídica de dos moléculas de un resto aminoacídico representado por la fórmula;



- 5 (R es igual a lo definido anteriormente, y R puede ser igual o diferente en cada unidad de repetición), y la longitud que contiene una variación de aproximadamente $\pm 20\%$, preferentemente aproximadamente $\pm 10\%$ dependiendo del formato de unión de los átomos C, O, N y S que constituyen la longitud de la cadena. La longitud de cadena molecular correspondiente a un tripéptido se refiere a una longitud de cadena molecular correspondiente a una unidad peptídica de tres moléculas de un resto aminoacídico representado por la fórmula:



- 10 (R es igual a lo definido anteriormente, y R puede ser igual o diferente en cada unidad de repetición), y la longitud que contiene una variación de aproximadamente $\pm 20\%$, preferentemente aproximadamente $\pm 10\%$ dependiendo del formato de unión de los átomos C, O, N y S que constituyen la longitud de cadena. Entre otros, es preferible que X tenga una longitud de cadena molecular correspondiente a un resto aminoacídico o un dipéptido, y es más preferible que X tenga una longitud de cadena molecular correspondiente a un dipéptido.

- 15 Es particularmente preferible que X sea un grupo orgánico representado por la fórmula (4); $\text{H}_2\text{N}-\text{X}^1-\text{CO}-$ (X^1 representa un grupo alquileo C_4 que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo orgánico en el que al menos un átomo de carbono del grupo alquileo C_4 está sustituido con O, N o S). Los ejemplos de X^1 incluyen un sustituyente representado por $\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)_4-$ (en la que R^5 y R^6 pueden ser iguales o diferentes, y representan un grupo alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido o un grupo alquenoilo C_{2-6} opcionalmente sustituido, y R^5 y R^6 pueden ser iguales o diferentes en cada unidad de repetición), y un sustituyente en el que, entre cuatro unidades de repetición en el sustituyente mencionado anteriormente, al menos una unidad está sustituida con (NR^7) (en la que R^7 representa un grupo alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido o un grupo alquenoilo C_{2-6} opcionalmente sustituido) o O. Específicamente, los ejemplos de X^1 incluyen $-(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})-$, $-(\text{CH}_2)_4-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-(\text{CH}_2)_3-$ o $-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}_2-\text{GH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})-\text{CH}_2-$.

- 25 En la fórmula (3) mencionada anteriormente, los ejemplos de Y incluyen los mismos ejemplos que los grupos representados por la fórmula (1) que lleva el segundo o tercer aminoácido del extremo amino terminal del derivado polipeptídico I.

- 30 En la fórmula (3) mencionada anteriormente, Z no está particularmente limitado siempre y cuando sea un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo, pero un aminoácido natural hidrófobo o una forma D del mismo es preferible. Los ejemplos de los aminoácidos naturales hidrófobos incluyen leucina, valina, isoleucina, triptófano y fenilalanina y, entre otros, un aminoácido hidrófobo aromático tal como triptófano y fenilalanina es preferible. Además, un aminoácido natural básico, tal como lisina, arginina e histidina también es preferible y, entre otros lisina es más preferible como Z.

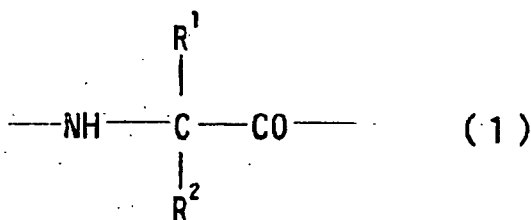
- 35 Además, como también se ha ejemplificado, como otra realización preferible, un derivado polipeptídico que tiene una estructura en la que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están deletionados, sustituidos o añadidos en la secuencia de aminoácidos parcial se unen a un compuesto de tipo péptido que consiste en una estructura representada por la fórmula (3); X-Y-Z (en la X, Y y Z son iguales que lo definido anteriormente) (en lo sucesivo en este documento, denominado derivado polipeptídico III).

En el derivado polipeptídico III, la descripción respecto al derivado polipeptídico II se usa también para un derivado

polipeptídico que consiste en una estructura representada por la fórmula (3); X-Y-Z (en la que X, Y, Z son iguales a lo definido anteriormente).

5 En el derivado polipeptídico III, como una secuencia de aminoácidos que está unida a un derivado polipeptídico que consiste en una estructura representada por la fórmula (3); X-Y-Z (en la que X, Y, Z son iguales a lo definido anteriormente), se ejemplifica preferentemente una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial; o una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, o una secuencia de aminoácidos en la que 1 o 2 o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial.

Además, en la presente invención, puede usarse también preferentemente un derivado polipeptídico (en lo sucesivo en este documento denominado derivado polipeptídico IV) consiste en una estructura representada por la fórmula (5); A-B-C-D [en la que A y D son un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo, uno o ambos de B y C representan un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



(en la que R^1 y R^2 son iguales a lo definido anteriormente),

cuando solo uno de B y C es un resto aminoacídico representado por la fórmula (1), el otro es un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo].

25 En la fórmula (5) mencionada anteriormente, cuando B o C es un grupo representado por la fórmula (1), los ejemplos de dicho grupo incluyen los mismos grupos que los del segundo o tercer resto aminoacídico desde el extremo amino terminal en el derivado polipeptídico I. En el caso de que solamente C sea un grupo representado por la fórmula (1), B puede ser un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo, entre otros preferentemente alanina, serina o histidina, que tiene una pequeña cadena secundaria, o una forma D del mismo, o glicina. Cuando solo B es un grupo representado por la fórmula (1), C puede ser un resto aminoacídiconatural o un isómero óptico del mismo y, entre otros, un aminoácido natural hidrófobo o un aminoácido natural básico, o una forma D del mismo es preferible.

35 En la fórmula (5) mencionada anteriormente, A puede ser un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo y, entre otros, es preferible glicina.

En la fórmula (5) mencionada anteriormente, D puede ser un resto aminoacídico natural o un isómero óptico del mismo y, entre otros, un aminoácido natural hidrófobo o un aminoácido natural básico, o una forma D del mismo es preferible.

40 Se ejemplifican, como otro ejemplo preferible, un derivado polipeptídico (en lo sucesivo en este documento denominado derivado polipeptídico V) que consiste en una estructura en la que una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto aminoácido desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, y una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en dichas secuencia de aminoácidos parcial se unen a un derivado polipeptídico que consiste en una estructura representada por la fórmula (5); A-B-C-D (en la que A, B, C y D son iguales a lo definido anteriormente).

45 En el derivado polipeptídico V, la descripción respecto al derivado IV puede usarse también para el derivado polipeptídico que consiste en una estructura representada por la fórmula (5); A-B-C-D (en la que A, B, C y D son iguales a lo definido anteriormente).

55 En el derivado polipeptídico V, como una secuencia de aminoácidos que está unida a un derivado polipeptídico que consiste en una estructura representada por la fórmula (5); A-B-C-D (en la que A, B, C y D son iguales a lo definido anteriormente), se ejemplifica preferentemente una secuencia de aminoácidos parcial correspondiente a una secuencia de aminoácidos del quinto al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal en una secuencia de

aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 y una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial; una secuencia de aminoácidos parcial del quinto al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal, y una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos o más [preferentemente varios (2 a 5)] aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en dicha secuencia de aminoácidos parcial.

En la grelina o derivados polipeptídicos I a V mencionados anteriormente, un aminoácido básico puede estar unido adicionalmente al extremo carboxilo terminal. En este documento, los ejemplos del aminoácido básico incluyen aminoácidos naturales básicos, tales como los mencionados anteriormente lisina, arginina e histidina, o la forma D de los mismos o el ácido D- o L- N-metilamino de los mismos.

Además, en la grelina o derivados polipeptídicos I a V, mencionados anteriormente, el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal puede formar una sal, un éster o una amida. Cuando un grupo carboxilo forma una sal, la sal es preferentemente una sal farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales con una base inorgánica, sales con una base orgánica, sales con un ácido inorgánico, sales con un ácido orgánico y sales con un aminoácido básico o ácido. Los ejemplos preferibles de sales con una base inorgánica incluyen sales de metales alcalinos, tales como una sal de sodio, y una sal de potasio; sales de metales alcalinotérreos, tales como una sal de calcio, y una sal de magnesio; y una sal de aluminio, y una sal de amonio. Los ejemplos preferibles de sales con una base orgánica incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitlohexilamina y N,N'-dibenciletilendiamina. Los ejemplos preferibles de sales con un ácido inorgánico incluyen sales con un ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Los ejemplos preferibles de sales con un ácido orgánico incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido p-tolueno sulfónico. Los ejemplos preferibles de sales con un aminoácido básico incluyen sales con argina, lisina y ornitina, y los ejemplos preferibles de sales con un aminoácido ácido incluyen sales con ácido aspártico y ácido glutámico. Entre estas sales, una sal de ácido acético, una sal de sodio y una sal de potasio son las más preferibles.

Cuando el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma un éster, los ejemplos de dichos ésteres incluyen ésteres representados por la fórmula; COOR^8 (en la que R^8 representa un grupo alquilo C_{1-6} , un grupo alquenilo C_{2-6} , un grupo arilo C_{6-14} o un grupo aralquilo C_{7-16}).

Cuando el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma una amida, los ejemplos de dichas amidas incluyen amidas representadas por la fórmula; $-\text{CON}(\text{R}^9)(\text{R}^{10})$ (R^9 y R^{10} son iguales o diferentes, y representan un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C_{1-6} , un grupo alquenilo C_{2-6} , un grupo arilo C_{6-14} o un grupo aralquilo C_{7-16}). Entre otros, $-\text{CONH}_2$ es preferible.

Cuando el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma un éster o amida, un grupo básico tal como un grupo amino o un grupo guanidido puede unirse adicionalmente al éster o amida.

Como una realización del derivado polipeptídico que puede usarse en la presente invención preferentemente se ejemplifica:

grelina derivada de seres humanos (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por las SEQ ID Nos: 1 o 2 está acilado con ácido acético, ácido butírico, ácido valérico, ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de rata (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID Nos: 3 o 4 está acilado con ácido acético, ácido butírico, ácido valérico, ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de ratón (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 5 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de cerdo (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID Nos: 6 o 7 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de vaca (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 8 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de cerdo (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 7 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de perro (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 10 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de anguila (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 11 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de trucha arco iris (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID Nos: 12 o 13 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de pollo (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID Nos: 14, 15 o 16 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);

grelina derivada de rana (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de

aminoácidos representada por la SEQ ID Nos: 17 o 18 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);
 grelina derivada de tilapia (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 19 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);
 grelina derivada de siluro (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID Nos: 20 o 21 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico);
 grelina derivada de caballo (un derivado polipeptídico en el que el tercer resto serina de una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID No: 22 está acilado con ácido octanoico o ácido decanoico). La grelina derivada de seres humanos, rata, ratón, cerdo, vaca, oveja, perro o caballo es más preferible, y la grelina derivada de seres humanos es particularmente preferible.

Además, preferentemente puede usarse:

Grelina(1-9)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-NH₂;

[Ser³(Acetil)]-rGrelina:

GSS (CO-CH₃) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR

[Ser³(Butiril)]-rGrelina:

GSS (CO-C₃H₇) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR

[Ser³(Hexanoil)]-rGrelina:

GSS(CO-C₅H₁₁)FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR;

[Ser³(Decanoil)]-rGrelina:

GSS (CO - C₉H₁₉) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR;

[Ser³(Lauroil)]-rGrelina:

GSS (CO-C₁₁H₂₃) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR;

[Ser³(Palmitoil)]-rGrelina:

GSS (CO-C₁₅H₃₁) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR;

[Ser³(3-Fenilpropionil)]-hGrelina:

GSS(CO-CH₂CH₂Ph) FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;

[Ser³(3-Octenoil)]-hGrelina:

GSS (CO-CH₂CH=CH (CH₂)₃CH₃) FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;

[Ser³(Octil)]-hGrelina:

GSS(C₈H₁₇) FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;

[Cys³(Octil)]-rGrelina:

GSC (C₈H₁₇) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR;

hGrelina(1-15):

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg
 -Val-Gln-Gln-Arg-OH;

[des Gln¹⁴]-rGrelina:

GSS (CO-C₇H₁₅) FLSPEHQKAQQRKESKKPPAKLQPR;

hGrelina(1-11):

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅) -Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-OH;

Grelina(1-10):

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-OH;

Grelina(1-8)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-NH₂;

Grelina(1-7)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;

Grelina(1-6)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-NH₂;

Grelina(1-5):

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-OH;

Grelina(1-5)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-NH₂;

Grelina(1-4)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-NH₂;

[Lys⁸]-Grelina(1-8)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-Lys-NH₂;

[Arg⁸]-Grelina(1-8)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-Arg-NH₂;

[Lys⁶]-Grelina(1-6)-amida:

H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Lys-NH₂;

[Lys⁵]-Grelina(1-5)-amida:

H-Gly-Ser-Ser (CO-C₇H₁₅)-Phe-Lys -NH₂;

[N-Aminopentanoil]-Grelina(3-7)-amida:

NH₂-(CH₂)₄-CO-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;

[Leu²]-Grelina(1-7)-amida:

- H-Gly-Leu-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;
 [His²]-Grelina(1-7)-amida:
 H-Gly-His-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;
 [Lys²]-Grelina(1-7)-amida:
 5 H-Gly-Lys-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;
 [Cys³(Octil)]-Grelina(1-7)-amida:
 H-Gly-Ser-Cys(C₈H₁₇)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;
 [Ser³(Octil)]-Grelina(1-7)-amida:
 H-Gly-Ser-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Leu-Ser-Pro-NH₂;
 10 [Asp³(O-Heptil)]-hGrelina:
 GSD(O-C₇H₁₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Asp³(NH-Heptil)]-hGrelina:
 GSD(NH-C₇H₁₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Dap³(Octanoil)]-hGrelina:
 15 GS-NH^L-CH(CH₂NHCO-C₇H₁₅)-CO-FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Cys³(S-Heptil)]-hGrelina:
 GSC(S-C₇H₁₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Adod³]-hGrelina:
 GS-NH-CH(n-C₁₀H₂₁)-CO-FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 20 [Thr³(Octanoil)]-hGrelina:
 GST(CO-C₇H₁₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Leu², Thr³(Octanoil)]-hGrelina:
 GLT(CO-C₇H₁₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Lys³(Octanoil)]-hGrelina:
 25 GSK(CO-C₇H₁₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Trp³]-hGrelina:
 GSWFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Cha³]-hGrelina:
 GS-Cha-FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 30 [2-^LNal³]-hGrelina:
 GS-^LNal-FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Ser³(Bzl)]-hGrelina:
 GSS(CH₂-C₆H₅)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Cys³(Tritil)]-hGrelina:
 35 GSC(C-Ph₃)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Ser³(4-Metilpentanoil)]-hGrelina:
 GSS(CO-CH₂CH₂CH(CH₃)₂)FLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR;
 [Lys⁷]-Grelina(1-7)-amida:
 H-Gly-Ser-Ser(CO-C₇H₁₅)-Phe-Leu-Ser-Lys-NH₂;
 40 [N-Aminopentanoil, Ser³(Octil), Lys⁵]-Grelina(3-5)-amida:
 NH₂-(CH₂)₄-CO-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Lys-NH₂;
 [Aib¹, His², Ser³(Octil), Lys⁵]-Grelina(1-5)-amida:
 H-Aib-His-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Lys-NH₂;
 [Aib¹, His², ^DSer³(Octil), ^DPhe⁴, Lys⁵]-Grelina(1-5)-amida:
 45 H-Aib-His-^DSer(C₈H₁₇)-^DPhe-Lys-NH₂;
 [Aib¹, His², ^DNal³, ^DPhe⁴, Lys⁵]-Grelina(1-5)-amida:
 H-Aib-His-^DNal-^DPhe-Lys-NH₂;
 [N-Aminopentanoil, Ser³(Octil)]-Grelina(3-5)-amida:
 NH₂-(CH₂)₄-CO-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Leu-NH₂;
 50 [N-Aminopentanoil, Ser³(Octil)]-Grelina(3-5)-metilamida:
 NH₂-(CH₂)₄-CO-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Leu-NH-CH₃;
 [N-Aminopentanoil, Ser³(Octil)]-Grelina(3-5)-etilamida:
 NH₂-(CH₂)₄-CO-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Leu-NH-C₂H₅; y
 [N-Aminopentanoil, Ser³(Octil)]-Grelina(3-5)-aminoetilamida:
 55 NH₂-(CH₂)₄-CO-Ser(C₈H₁₇)-Phe-Leu-NH-(CH₂)₂-NH₂.

La grelina o derivados polipeptídicos mencionados anteriormente pueden obtenerse por un método conocido. Los ejemplos de dichos métodos incluyen un método de aislamiento a partir de materias primas naturales, un método usando una técnica de ADN recombinante, un método de síntesis química, y un método que consiste en combinar una técnica de ADN recombinante y síntesis química. Los ejemplos del método de aislamiento a partir de materias primas naturales incluyen un método de cultivo de una célula productora de grelina de un tracto digestivo, y aislar y purificar grelina. Los ejemplos del método que usa la técnica de ADN recombinante incluyen un método de transformar una célula huésped que puede modificar una cadena lateral de al menos un resto aminoacídico en un polipéptido, un representante del cual es una célula del tracto digestivo, con un vector que contiene un gen de grelina, cultivar la célula transformada resultante y recoger el derivado polipeptídico objetivo del cultivo. Los ejemplos del método de síntesis química incluyen método de síntesis en fase sólida y un método de síntesis en fase líquida

que se usan convencionalmente en la técnica. Los ejemplos del método de combinar la técnica de ADN recombinante y síntesis química incluyen un método de preparar una parte de grelina mediante una síntesis química, preparar un resto de grelina mediante un método de manipulación genética y condensar ambos. Más específicamente, los ejemplos de un proceso para preparar el derivado polipeptídico incluyen los métodos descritos en el documento WO 01/07475 y en la Solicitud de Patente Japonesa N° 2003-106533.

Para medir una concentración intracelular de ión calcio, puede utilizarse el método conocido y, deseablemente, FLIPR (Lector de placa por formación de imágenes fluorométricas, Molecular Devices), o puede usarse FLEX station™ (Molecular Devices) utilizando un cambio en la intensidad fluorescente de Fluo-4 AM (Molecular Probe) debido a un cambio en la concentración de ión calcio.

Para confirmar la secreción de GH que induce la actividad *in vitro* o *in vivo*, puede utilizarse el método conocido. Por ejemplo, en el caso *in vitro* hay un método de adición de una sustancia de ensayo a las células de la glándula pituitaria que secreta GH, y se ha confirmado para la expresión de GHS-R y la medición de GH secretada en el cultivo celular por radioinmunoensayo usando un anticuerpo anti-GH. Además, en el método de radioinmunoensayo, cuando se usa un anticuerpo contra otra hormona en lugar del anticuerpo anti-GH, puede medirse también una cantidad de secreción de la hormona. Para confirmar la actividad de inducción de secreción de GH *in vivo*, puede medirse una concentración de GH en suero después de la inyección de una sustancia de ensayo en una vena periférica de animales (por ejemplo, de rata).

Un agente preventivo o terapéutico para hepatopatía contiene el derivado peptídico mencionado anteriormente o una sal farmacológicamente aceptable del mismo. Como la sal farmacológicamente aceptable, pueden ejemplificarse las mismas sales que las descritas anteriormente. El agente preventivo o terapéutico para hepatopatía puede contener el derivado polipeptídico o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, pero normalmente el agente preventivo o terapéutico se usa mezclando un ingrediente eficaz con el vehículo farmacológicamente aceptable conocido *per se*. Una composición farmacéutica que consiste en el ingrediente eficaz y, opcionalmente, un vehículo farmacológicamente aceptable puede tomar las formas conocidas tales como preparaciones sólidas incluyendo comprimidos, píldoras, polvos, gránulos y cápsulas; preparaciones líquidas, tales como inyecciones y jarabes; preparaciones externas, tales como supositorios, gotas para los ojos, gotas nasales, trociscos, soluciones externas y aerosoles. Es preferible que el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía de la presente invención tenga formas tales como inyecciones, gotas nasales y aerosoles. Las inyecciones pueden tomar formas en las que preparaciones liofilizadas que contienen el ingrediente eficaz de la presente invención y, opcionalmente, un vehículo farmacológicamente aceptable se disuelven en un disolvente después de su uso.

Como el vehículo farmacéuticamente aceptable, diversas sustancias excipientes orgánicas o inorgánicas, que se usan convencionalmente como un material de formulación, se usan y se incorporan como excipientes, lubricantes, aglutinantes o disgregantes en preparaciones sólidas, soluciones, solubilizadores, agentes de suspensión, isotónicos, tampones o agentes de inyección en preparaciones líquidas. Si fuera necesario, pueden usarse aditivos de formulación, tales como antisépticos, antioxidantes, colorantes y edulcorantes.

Los ejemplos preferibles de excipientes incluyen lactosa, azúcar blanco, D-manitol, almidón, celulosa cristalina, anhídrido silícico ligero, dextrano y un derivado del mismo. Los ejemplos preferibles de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco y sílice coloidal. Los ejemplos preferibles de aglutinantes incluyen celulosa cristalina, azúcar blanca, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, polivinilpirrolidona, dextrano y un derivado de los mismos. Los ejemplos preferibles de disgregantes incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de potasio, croscarmelosa sódica y carboximetil almidón sódico. Los gránulos y comprimidos pueden estar recubiertos con un agente de recubrimiento entérico (por ejemplo, acetato ftalato de celulosa, copolímero de ácido metacrílico, ftalato de hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, etc.). Las cápsulas pueden ser cápsulas con recubrimiento entérico, cápsulas con resistencia intragástrica o cápsulas de liberación controlada además de las cápsulas convencionales. Cuando se formulan en cápsulas recubiertas entéricas, el excipiente adecuado mencionado anteriormente se añade al agente preventivo o terapéutico para hepatopatía recubierto con un agente de recubrimiento entérico, y la mezcla se llena en cápsulas convencionales. Como alternativa, el agente preventivo o terapéutico para hepatopatía puede llenarse en una cápsula recubierta con un agente de recubrimiento entérico o una cápsula puede formarse usando un polímero entérico como una base.

Los ejemplos preferibles de disolventes incluyen agua para inyección, alcohol, propilenglicol, macrogol, aceite de sésamo y aceite de maíz. Los ejemplos preferibles de solubilizantes incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato sódico y citrato sódico. Los ejemplos preferibles de agentes de suspensión incluyen tensioactivos, tales como esteariltrietaolamina, laurilsulfato sódico, ácido laurilaminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio y monoestearato de glicerina; polímeros hidrófilos, tales como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. Los ejemplos preferibles de isotónicos incluyen cloruro sódico, glicerina y D-manitol. Los ejemplos preferibles de tampones incluyen fosfatos, acetatos, carbonatos y citratos. Los ejemplos preferibles de agentes de inyección incluyen alcohol bencílico. Los ejemplos preferibles de antisépticos incluyen ésteres de ácido paraoxibenzoico, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenetílico, ácido deshidroacético y ácido sórbico. Los ejemplos preferibles de

antioxidantes incluyen sulfitos y ácido ascórbico.

5 Cuando el fármaco tiene una forma de dosificación de supositorios, el fármaco puede prepararse combinando un ingrediente eficaz de la presente invención y, opcionalmente, por ejemplo, anestésicos locales, agentes antihistamínicos, astringentes locales, agentes sulfa, antibióticos, terapéuticos para heridas, tensioactivos, vitaminas, extractos de fármaco en bruto, ácidos biliares, antisépticos, excipientes, agentes promotores de la absorción o aminoácidos en una base lipófila, una base acuosa o una base de emulsión.

10 Cuando el fármaco tiene una forma de dosificación de soluciones externas, los ejemplos de un vehículo farmacéuticamente aceptable incluyen tampones, estabilizadores, antisépticos, agentes ajustadores del pH y disolventes, solubilizadores, aromatizantes, agentes de gelificación, correctivos y agentes refrescantes. Los ejemplos de los disolventes incluyen glicerina, propilenglicol, etanol, isopropanol, butilenglicol, agua, sorbitol, manitol, xilitol, glucosa, ácido ϵ -aminocaproico, glicina, sal de ácido glutámico, hialuronato sódico, polietilenglicoles, polímeros de carboxivinilo, alcoholes superiores, tales como cetanol y alcohol estearílico, ésteres de ácido graso de cadena media, ésteres de ácido graso, tales como miristato de isopropilo, ácidos grasos superiores, tales como ácido esteárico, escualeno, parafina líquida, vaselina blanca y lanolina purificada.

15 Usando las soluciones externas con propulsores convencionales, pueden prepararse agentes de aerosol. Los ejemplos de los propulsores incluyen dimetiléter, petróleo gaseoso licuado, nitrógeno gaseoso, óxido nitroso gaseoso, dióxido de carbono gaseoso y, como alternativa, freones gaseosos, que normalmente se usan en un aerosol. El aire presurizado puede usarse sin usar dichos propulsores. Como alternativa, puede usarse una mezcla de los mismos.

20 El derivado polipeptídico o una sal farmacológicamente aceptable del mismo tiene baja toxicidad, y puede usarse en seres humanos o mamíferos excepto para seres humanos (por ejemplo, ratón, rata, conejo, perro, gato, vaca, caballo, cerdo, mono, etc.). Puesto que la dosis es diferente dependiendo de los síntomas, estado de nutrición, edad y peso corporal de los pacientes, y el fármaco de combinación, no siempre puede decirse, definitivamente, que la dosis es de aproximadamente 0,001 a 100 mg, preferentemente de aproximadamente 0,01 a 10 mg, más preferentemente de aproximadamente 0,1 a 10 mg por día cuando se administra por vía parenteral, preferentemente se inyecta por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular a un adulto. Es deseable que esta cantidad se administre una vez a unas cuantas veces por día.

25 Es preferible que el fármaco se administre a un paciente por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular y, en el caso de asistencia domiciliaria, son deseables administración oral, administración nasal, administración pulmonar y administración por supositorios. El periodo de administración es preferentemente de aproximadamente 4 a 24 semanas, más preferentemente de aproximadamente 4 a 12 semanas.

30 El agente preventivo o terapéutico para hepatopatía es particularmente eficaz en hepatitis, cirrosis del hígado o insuficiencia hepática. Los ejemplos de hepatitis incluyen hepatitis vírica, hepatitis alcohólica, hepatitis por fármacos y hepatitis autoinmune.

35 El agente preventivo o terapéutico para hepatopatía puede usarse también como un agente para promover la regeneración hepática y la recuperación de la función hepática después de la operación del hígado utilizando la actividad de proliferación de hepatocitos derivada de derivados polipeptídicos o sales farmacológicamente aceptables de los mismos. Específicamente, la operación del hígado incluye hepatectomía y similares.

Ejemplos

40 La presente invención se explicará en detalle a modo de Ejemplos, aunque no es necesario decir que la presente invención no está limitada a los mismos.

Ejemplo 1

45 Experimento de administración de ghrelina usando modelo de cirrosis hepática/fibrosis hepática inducida por dimetilnitrosoamina (DMN) (Estimación de la tasa de supervivencia)

Se preparó un modelo de rata de cirrosis hepática/fibrosis hepática inducido por DMN, se inyectó por vía subcutánea ghrelina de rata y se investigó el efecto en la hepatopatía. Se muestra un flujo temporal del presente ejemplo en la Fig. 1.

(1) Preparación del modelo de cirrosis hepática/fibrosis hepática inducido por DMN

50 En el uso, se preparó una dilución en la que se diluyó DMN (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) con una solución salina fisiológica (fabricada por Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., solución salina fisiológica descrita en la Farmacopea japonesa) a concentración 1 % (v/v) y ésta se administró por vía intraperitoneal a ratas macho (4 semanas de edad) de modo que DMN alcanzó 1 ml/kg. La administración se realizó una vez por día, durante tres

días consecutivos en una semana, y la administración se repitió durante 6 semanas, y la fecha de administración de primera vez se consideró día 1.

(2) Preparación de solución de dosificación

Se añadió ghrelina de rata (obtenida de Peptide Institute Inc., Japón) a manitol 5 % en peso como un disolvente a una concentración de 1 mg/ml, se distribuyó la cantidad necesaria de ésta cada vez, y se almacenó en congelación a aproximadamente -80 °C hasta su uso. En el uso, esta se descongeló, y se diluyó con una solución salina fisiológica a una concentración de 30 µg/ml y 3 µg/ml para obtener una solución de dosificación.

(3) Administración de ghrelina

Cada 1 ml/kg de solución de dosificación que contenía ghrelina 3 µg/ml o ghrelina 30 µg/ml preparada en (2) se administró por vía subcutánea a la rata tratada con DMN obtenida en (1) en la espalda. Además, como grupo de control, se administró solución salina fisiológica 1 ml/kg que no contenía ghrelina por vía subcutánea a la rata tratada con DMN obtenida en (1) en la espalda. La administración se realizó una vez al día cada día desde la fecha de administración de primera vez de DMN (día 1), durante 8 semanas.

(4) Resultado

Se muestran las curvas de supervivencia de un grupo al que se administró solución salina fisiológica, un grupo al que se administró ghrelina 3 µg/kg y un grupo al que se administró 30 µg/kg en la Fig. 2. En el grupo al que se administró solución salina fisiológica, comenzaron a aparecer casos de muerte 40 días después del inicio del tratamiento y la mitad murieron a los 56 días. Por el contrario, en ratas del grupo al que se administró ghrelina 3 µg/kg, el 75 % sobrevivió a los 56 días y, en el grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg, todos los casos sobrevivieron. A partir de los resultados anteriores, se demostró que la ghrelina tiene el efecto de reducir drásticamente la mortalidad en un modelo de cirrosis hepática/fibrosis hepática inducida por DMN.

Ejemplo 2

Experimentos de administración de ghrelina usando modelo de cirrosis hepática/fibrosis hepática inducida por DMN (Estimación de diversos parámetros)

De acuerdo con el mismo modo que el del Ejemplo 1 excepto que los días de administración se cambiaron de 8 semanas a 35 días, se realizó un experimento y el efecto de la ghrelina de rata en la hepatopatía se estimó desde un punto de vista de peso del órgano, hematología y bioquímica del suero. Se uso un grupo no tratado con DMN (rata normal) con un grupo de control.

(1) Peso del órgano

La Tabla 1 muestra los pesos del órgano, y la frecuencia de aparición de líquido ascítico antes y después de inyección subcutánea de una solución salina fisiológica o ghrelina a una rata con fibrosis hepática inducida por DMN junto con datos de ratas normales. La variación del peso del órgano (g) en la Tabla se calculó por la siguiente ecuación; Δ peso del órgano (g) = peso del órgano 35 días después de la administración (g) - peso del órgano antes de la administración (g) y cada valor de la Tabla muestra la media \pm E.T.

El peso del hígado del grupo al que se administró solución salina fisiológica y el grupo al que se administró ghrelina 3 µg/kg se redujo en comparación con una rata normal, aunque hubo una tendencia a que la reducción del peso del hígado se suprimiera en el grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg. El peso del bazo aumentó a más de 2 veces en el grupo al que se administró solución salina fisiológica y el grupo al que se administró ghrelina 3 µg/kg en comparación con ratas normales, mientras que el aumento se suprimió ligeramente en el grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg. Se observó aparición de líquido ascítico en casi la mitad de las ratas en el grupo al que se administró solución salina fisiológica, mientras que no apareció líquido ascítico en el grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg.

Tabla 1

Grupo	Número	Δ peso del hígado (g)	Δ peso del bazo (g)	Líquido Ascítico
Grupo de control (rata normal)	5	15,9 \pm 0,7	1,01 \pm 0,03	0/5
Tratamiento con DMN				
Grupo al que se administró solución salina fisiológica	7	13,6 \pm 0,6 *	2,32 \pm 0,16 **	3/7
Grupo al que se administró ghrelina 3 μ g/kg	7	13,6 \pm 0,7	2,20 \pm 0,08	2/7
Grupo al que se administró ghrelina 30 μ g/kg	7	14,3 \pm 0,6	1,83 \pm 0,12 ***	0/7

5 En la Tabla, * indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,05$ en relación con el grupo de control. ** indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,001$ en relación con el grupo de control. *** indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,05$ en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

(2) Hematología

10 La Tabla 2 muestra los datos de hematología antes y después de inyección subcutánea de una solución salina fisiológica o ghrelina a una rata con fibrosis hepática inducida por DMN junto con datos de ratas normales.

15 En comparación con ratas normales, en el grupo al que se administró solución salina fisiológica, hubo una tendencia a que el número de leucocitos aumentara por tratamiento con DMN, y se observó una tendencia a que el número de eritrocitos se redujera y el número de plaquetas se redujera. Sin embargo, mediante la administración de ghrelina 30 μ g/kg, se recuperó el número de plaquetas. Además, se mostró una tendencia a que el número de otros hemocitos volviera a un nivel normal.

Tabla 2

20

Grupo	Número	Leucocito ($\times 10^3/\mu$ l)	Eritrocito ($\times 10^6/\mu$ l)	Plaquetas ($\times 10^4/\mu$ l)
Grupo de control (rata normal)	5	3,9 \pm 0,4	7,5 \pm 0,2	75,6 \pm 7,9
Tratamiento con DMN				
Grupo al que se administró solución salina fisiológica	7	7,9 \pm 1,6	6,5 \pm 0,2 *	50,9 \pm 8,4
Grupo al que se administró ghrelina 3 μ g/kg	7	7,3 \pm 0,6	6,4 \pm 0,2	52,3 \pm 6,2
Grupo al que se administró ghrelina 30 μ g/kg	7	6,6 \pm 1,2	6,8 \pm 0,3	89,6 \pm 5,5 **

25 En la Tabla, * indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,005$ en relación con el grupo de control. ** indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,005$ en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

(3) Bioquímica de suero

30 La Tabla 3 muestra los datos de sistemas de fibrinólisis de coagulación antes y después de inyección subcutánea de una solución salina fisiológica o ghrelina a una rata con fibrosis hepática inducida por DMN junto con datos de ratas normales.

35 En comparación con ratas normales, en el grupo al que se administró solución salina fisiológica, se observó que el fibrinógeno en suero tendía a reducirse y el tiempo de hepaplastina tendía a prolongarse. Sin embargo, por administración de ghrelina, se recuperó una tendencia del fibrinógeno a la normalización, y el tiempo de hepaplastina también tendió a normalizarse.

Tabla 3

Grupo	Número	Fibrinógeno (g/l)	Tiempo de hepaplastina tiempo (s)
Grupo de control (rata normal)	5	247,5 ± 11,4	67,8 ± 3,1
Tratamiento con DMN			
Grupo al que se administró solución salina fisiológica	7	151,2 ± 16,3 *	100,2 ± 14,2
Grupo al que se administró ghrelina 3 µg/kg	7	166,3 ± 9,5	85,2 ± 11,8
Grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg	7	207,3 ± 16,3 **	77,8 ± 3,2

5 En la Tabla, * indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,005$ en relación con el grupo de control. ** indica que hay una diferencia significativa de $p < 0,005$ en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

Ejemplo 3

10 Actividad de promoción de la proliferación de hepatocitos de rata por administración repetida de ghrelina durante una semana.

15 Se administró repetidamente ghrelina 10 µg/kg por vía intravenosa a ratas macho Wistar dos veces al día durante 7 días y, al día siguiente de la compleción de la administración, se aisló y fijó el hígado. Después se inmunotizó proteína ki-67 como un péptido que se expresa en la fase de crecimiento celular.

20 Para evaluar cuantitativamente la actividad de proliferación de hepatocitos por ghrelina, se seleccionaron de forma arbitraria ocho sitios de la sección de hígado de un caso del grupo al que se administró solución salina fisiológica y un caso del grupo al que se administró ghrelina, y entre aproximadamente 200 hepatocitos en un campo visual, se contó el número de células positivas para ki-67 bajo un microscopio.

25 Como se muestra en la Fig. 3, cuando se contaron células positivas para ki-67 bajo un microscopio óptico, y se compararon con el grupo al que se administró solución salina fisiológica, las células en la fase de crecimiento aumentaron de aproximadamente 2 a 10 veces en el grupo al que se administró ghrelina en comparación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

30 Además, como se muestra en la siguiente Tabla, en el grupo al que se administró solución salina fisiológica, el número de células positivas para ki-67 fue de $2,5 \pm 1,2$ entre 228 ± 27 de los hepatocitos observados, y la relación fue de $1,07 \pm 0,40$ %. Por el contrario, en el grupo al que se administró ghrelina, entre 231 ± 27 hepatocitos, $20,9 \pm 6,1$ ($p < 0,0001$) eran positivos para ki-67, y la relación fue de $9,28 \pm 3,26$ %.

Tabla 4

	Grupo al que se administró solución salina fisiológica	Grupo al que se administró ghrelina
Número de células totales observadas	228 ± 27	231 ± 27
Número de células positivas para ki-67	2,5 ± 1,2	20,9 ± 6,1
Relación positiva	1,07 ± 0,40	9,28 ± 3,26
P valor (*)	-	$p < 0,0001$

35 (*) p valor calculado basándose en el ensayo de t del grupo al que se administró ghrelina en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

Ejemplo 4

40 Peso del hígado después de hepatectomía

Se escindió el setenta % del hígado con anestesia en ratas macho Wistar y se inyectaron por vía subcutánea ghrelina 30 µg/kg o una solución salina fisiológica dos veces al día durante 3 días en dieta restringida al 40 %.

Cuatro días después, se aisló el hígado de la rata, y se midió el peso del hígado.

En la rata con dieta restringida al 40 %, en comparación con un grupo de inyección subcutánea de una solución salina fisiológica después de hepatectomía, el peso del hígado aumentó en un grupo de inyección subcutánea de ghrelina (Tabla 5).

Tabla 5

Administración	Peso del hígado	Número
Grupo al que se administró solución salina fisiológica	2,243 ± 0,119	7
Grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg	2,464 ± 0,133*	5

En la Tabla, * indica significación a un nivel de $p < 0,05$ en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

En el estado mórbido en hepatopatía tal como hepatitis, cirrosis hepática y cáncer de hígado después de hepatectomía, se ve trastorno del tracto digestivo, el estado de los nutrientes se agrava en muchos casos, el consumo de alimentos es insuficiente y la recuperación es insuficiente en muchos casos (Internal Drug Book 3, supervisado por Yamamura y Yoshitoshi, Nakayama-Shote Co., Ltd., p. 1095-1250 (1987)). En estudio con consumo restringido, se estudió el efecto de recuperación de la ghrelina en tales condiciones graves.

Después de hepatectomía en cirrosis hepática o cáncer de hígado, o en trasplante de hígado o fármaco de regeneración de hígado, se muestra que la ghrelina promueve la regeneración de los hepatocitos y es útil para la prevención de trastorno o curación temprana.

Ejemplo 6

Flujo de sangre del órgano

Se inyectó por vía subcutánea ghrelina 30 µg/kg o una solución salina fisiológica a ratas Wistar macho con anestesia, se administraron inmediatamente por vía intravenosa 1,5 millones de microesferas (diámetro 15,5 µm, Triron Technology Inc.), se aisló un órgano un minuto después, se midió la cantidad de microesferas en un órgano, y se midió el flujo de sangre en el órgano en el tiempo (Sharon L. *et al.*, *Circulation*, 78, p. 428-434 (1988); Kawai J. *et al.*, *Hipertens. Res.*, 25, p. 441-446 (2002)).

En comparación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica (control), en el grupo al que se administró ghrelina, aumentó la cantidad de flujo sanguíneo orgánico en el hígado, bazo y estómago ($p < 0,05$) y se mostró una tendencia al aumento de flujo sanguíneo en el yeyuno (Tabla 6).

Tabla 6

Grupo	Flujo sanguíneo Hepático (ml/min/kg)	Flujo sanguíneo del Bazo (ml/min/kg)	Flujo sanguíneo del estómago (ml/min/kg)
Grupo al que se administró solución salina fisiológica	0,554 ± 0,185	0,627 ± 0,289	0,426 ± 0,271
Grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg	1,049 ± 0,414 **	1,099 ± 0,264 *	1,064 ± 0,486 **
Grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg + atropina	0,650 ± 0,176	0,829 ± 0,432	0,584 ± 0,218

En la Tabla, cada valor indica la media ± desviación típica (6 ratas por grupo).

En la Tabla, * indica que hay una diferencia significativa en un nivel $p < 0,05$ en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica y ** indica que hay una diferencia significativa a un nivel de $p < 0,01$ en relación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica.

Se sabe que, en el caso de trastorno tal como cirrosis hepática, se reduce la cantidad de flujo sanguíneo hepático, y aumenta la cantidad en el bazo, y se sugiere que esto conduce a un trastorno tal como deterioro de la función

hepática y reducción de plaquetas (Internal Drug Book 3, supervisado por Yamamura y Yoshitoshi, Nakayama syoten, p. 1095-1250 (1987)).

5 Puesto que la administración de ghrelina aumentó el flujo sanguíneo en estos órganos, se ha mostrado que la ghrelina es útil para suprimir el daño orgánico visto en la hepatopatía. Es decir, se sabe que, en la cirrosis hepática, debido al tejido conectivo proliferado y el ganglio regenerado, se produce estenosis y oclusión de la rama venosa hepática, se inducen aumento de la presión portal y congestión hepática, se produce filtración de linfa hepática y esto se convierte en una causa de la generación de líquido ascítico (Internal Drug Book 3, supervisado por Yamamura y Yoshitoshi, Nakayama-Shoten Co., Ltd. p. 1095-1250 (1987)).
 10 Puede esperarse que la ghrelina que puede aumentar el flujo sanguíneo hepático sea un fármaco que puede prevenir o tratar el estado mórbido tal como variz y esplenoma que pueden generarse basándose en estos síntomas.

Ejemplo 7

15 Cantidad de expresión de marcador de proliferación de hepatocitos (PCNA) y HGF.

Se midieron las cantidades de expresión de un ARNm de PCNA y un ARNm de HGF en el hígado después de inyección subcutánea de una solución salina fisiológica y ghrelina a ratas con fibrosis hepática inducida por DMN mediante el método de RT-PCR en tiempo real. Se muestran cantidades de expresión de un ARNm de PCNA y un
 20 ARNm de HGF en la Tabla 7.

Tabla 7

Grupo	ARNm de PCNA	ARNm de HGF
Grupo al que se administró solución salina fisiológica	1,597 ± 0,269	1,317 ± 0,352
Grupo al que se administró ghrelina 30 µg/kg	2,083 ± 0,533	2,025 ± 0,595

25 En un grupo de administración de ghrelina a una rata con fibrosis hepática inducida por DMN, se aumentó la expresión de ARNm de HGF ($p < 0,05$), y la expresión de un ARNm de PCNA tendió a aumentar en comparación con el grupo al que se administró solución salina fisiológica. Estos resultados muestran que, en el estado mórbido tal como fibrosis hepática, la ghrelina ejerce una regeneración o recuperación de función de hepatocitos mediante aumento de la expresión de HGF, y es útil para mantener la función hepática.

30 Además, estos resultados muestran que un derivado de un polipéptido descrito en el presente documento que tiene una actividad de aumento de una concentración de calcio intracelular mediante GHS-R, incluyendo, por ejemplo, ghrelina humana, es útil para trastorno de función hepática basándose en enfermedades hepáticas tales como cirrosis hepática y regeneración hepática y recuperación de la función hepática después de hepatectomía, como en
 35 los Ejemplos anteriormente mencionados.

Aplicabilidad Industrial

40 Un derivado polipeptídico que sea un ingrediente eficaz puede evitar trastorno de la función hepática que se produce en enfermedades hepáticas tales como hepatitis, cirrosis hepática e insuficiencia hepática y, es útil para tratar estas enfermedades y evitar la progresión de estas enfermedades.

Además, un derivado polipeptídico que es un ingrediente eficaz tiene actividad promotora de la proliferación de hepatocitos y también es útil como un agente para promover la regeneración hepática/recuperación de la función
 45 hepática después de operación del hígado, particularmente hepatectomía.

Además, puesto que un derivado polipeptídico muestra pocos efectos secundarios en experimentos animales usando ratas, el derivado también tiene la ventaja de que puede administrarse de forma segura a mamíferos,
 50 incluyendo seres humanos.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> KANGAWA Kenji

5 <120> Una composición para prevenir y tratar hepatopatía que comprende ghrelina o sus derivados como un principio activo

<130> L 2736 EP

10 <160> 22

<210> 1

<211> 28

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos humanos del secretagogo de la hormona del crecimiento

20 <400> 1

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys

1

5

10

15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg

20

25

<210> 2

<211> 27

25 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos humanos (27 aminoácidos) del secretagogo de la hormona de crecimiento

30 <400> 2

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Arg Lys Glu

1

5

10

15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg

20

25

35 <210> 3

<211> 28

<212> PRT

<213> *Rattus norvegicus*

40 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de rata del secretagogo de la hormona de crecimiento

<400> 3

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Gln Arg Lys

1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg

20 25

<210> 4
 <211> 27
 5 <212> PRT
 <213> *Rattus norvegicus*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de rata (27 aminoácidos) del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 4

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Arg Lys Glu

1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg

20 25

15 <210> 5
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de ratón del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 5

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Gln Arg Lys

1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg

20 25

25 <210> 6
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Sus scrofa* (cerdo)

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos porcinos del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 6

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Gln Arg Lys

35

1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro Arg

20 25

<210> 7

<211> 27

5 <212> PRT

<213> *Sus scrofa* (cerdo)

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos porcinos (27 aminoácidos) del secretagogo de la hormona del crecimiento

10

<400> 7

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Arg Lys Glu

1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro Arg

20 25

15 <210> 8

<211> 27

<212> PRT

<213> *Bos taurus*

20 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos bovinos (27 aminoácidos) del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 8

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu

1 5 10 15

Ala Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg

25

20 25

<210> 9

<211> 27

30 <212> PRT

<213> *Ovis aries*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos ovinos (27 aminoácidos) del secretagogo de la hormona del crecimiento

35

<400> 9

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Arg Lys Glu
 1 5 10 15

Pro Lys Lys Pro Ser Gly Arg Leu Lys Pro Arg
 20 25

5 <210> 10
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> *Canis familiaris*
 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de perro del secretagogo de la hormona de crecimiento
 10 <400> 10

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Gln Arg Lys
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
 20 25

15 <210> 11
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> *Anguilla japonica*
 20 <220>
 <221> AMIDACIÓN
 <222> 21
 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de anguila del secretagogo de la hormona de crecimiento
 25 <400> 11

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Arg Pro Gln Gly Lys Asp Lys
 1 5 10 15

Lys Pro Pro Arg Val
 20

30 <210> 12
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> *Oncorhynchus raykiss*
 35 <220>
 <221> AMIDACIÓN
 <222> 23
 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de trucha arco-iris (23 aminoácidos) del secretagogo de la hormona del crecimiento
 40 <400> 12

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Lys Pro Gln Val Arg Gln Gly

1 5 10 15

Lys Gly Lys Pro Pro Arg Val

20

5 <210> 13
<211> 20
<212> PRT
<213> *Oncorhynchus mykiss*

10 <220>
<221> AMIDACIÓN
<222> 20

15 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de trucha arco-iris (20 aminoácidos) del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 13

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Lys Pro Gln Gly Lys Gly Lys

1 5 10 15

Pro Pro Arg Val

20

20 <210> 14
<211> 24
<212> PRT
<213> *Gallus domesticus*

25 <223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de pollo del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 14

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys

1 5 10 15

Gly Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg

20

30
35 <210> 15
<211> 24
<212> PRT
<213> *Gallus domesticus*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de pollo del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 15

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys

1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg

20

<210> 16
<211> 26
5 <212> PRT
<213> *Gallus domesticus*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de pollo del secretagogo de la hormona de crecimiento

10 <400> 16

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys

1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His

20 25

15 <210> 17
<211> 27
<212> PRT
20 <213> *Rana cafesbeiana*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de rana del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 17

Gly Leu Thr Phe Leu Ser Pro Ala Asp Met Gln Lys Ile Ala Glu Arg

1 5 10 15

Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn Met

25 20 25

<210> 18
<211> 28
30 <212> PRT
<213> *Rana cafesbeiana*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de rana del secretagogo de la hormona del crecimiento

<400> 18

35

Gly Leu Thr Phe Leu Ser Pro Ala Asp Met Gln Lys Ile Ala Glu Arg

1 5 10 15

Gln Ser Gln Asn Lys Leu Arg His Gly Asn Met Asn

20 25

5 <210> 19
<211> 20
<212> PRT
<213> *Tilapia nilotica*

10 <220>
<221> AMIDACIÓN

<222> 20
<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de tilapia del secretagogo de la hormona del crecimiento

15 <400> 19

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Lys Pro Gln Asn Lys Val Lys

1 5 10 15

Ser Ser Arg Ile

20 <210> 20
<211> 22
<212> PRT
<213> *Silurus asotus*

25 <220>
<221> AMIDACIÓN

<222> 22
<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de pez gato del secretagogo de la hormona del crecimiento

30 <400> 20

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Gln Lys Pro Gln Asn Arg Gly Asp

1 5 10 15

Arg Lys Pro Pro Arg Val

20

35 <210> 21
<211> 23
<212> PRT
<213> *Silurus asotus*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos de pez gato del secretagogo de la hormona del crecimiento

40 <400> 21

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Gln Lys Pro Gln Asn Arg Gly Asp

1 5 10 15

Arg Lys Pro Pro Arg Val Gly

20

<210> 22

<211> 28

5 <212> PRT

<213> *Equus caballus*

<223> Secuencia de aminoácidos para péptidos endógenos equinos del secretagogo de la hormona de crecimiento

10 <400> 22

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His His Lys Val Gln His Arg Lys

1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Lys Pro Arg

20

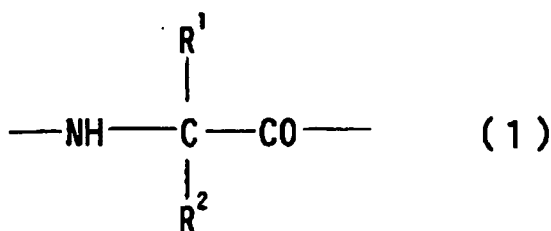
25

15

REIVINDICACIONES

1. Uso de un derivado polipeptídico que tiene una actividad de unión al receptor del secretagogo de la hormona del crecimiento y, de esta manera, eleva la concentración de ión calcio intracelular, o una sal del mismo, para preparar un medicamento para promover la regeneración hepática, recuperar la función hepática o promover la recuperación después de hepatectomía, en el que el derivado polipeptídico es

(i) un derivado polipeptídico en el que, en una secuencia polipeptídica de aminoácidos, que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22 y una secuencia de aminoácidos en la que de uno a cinco aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en una posición distinta del resto aminoacídico primero a cuarto en dichas secuencias de aminoácidos, el segundo o tercer resto aminoacídico desde el extremo amino terminal tiene un grupo representado por la siguiente fórmula (1);



{en la que R¹ y R² son iguales o diferentes, y representan -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹ representa un grupo hidrocarburo divalente de 1 a 20 átomos de carbono, P¹ representa -CO-, -SO₂-, -CO-O-, -O-CO-, -O-, -CO-S-, -S-CO-, -CS-S-, -S-CS-, -S-, -CO-NR⁴-, -NR⁴-CO-, -CO-NR⁴-CO-, -CS-NR⁴-CS-, -S-S-, -CS-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q¹ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₂₋₃₅ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alqueno C₁₋₆ - cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente) o -Q¹ (en la que Q¹ es igual a lo definido anteriormente), con la condición de que cuando uno de R¹ y R² es Q¹, el otro representa -T¹-P¹-Q¹ (en la que T¹, P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente), o -P¹-Q¹ (en la que P¹ y Q¹ son iguales a lo definido anteriormente));

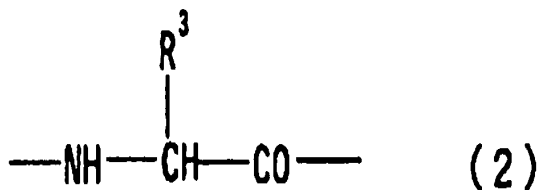
(ii) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos del primer al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, en las que el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la siguiente fórmula (1) mencionada anteriormente;

(iii) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos en la que de 1 a 5 aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en el resto(s) aminoacídico(s) distinto del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal en la secuencia de aminoácidos del primero al décimo aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, y el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente;

(iv) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal en las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, en las que el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente; o

(v) un derivado polipeptídico que tiene una secuencia de aminoácidos en la que de 1 a 5 aminoácidos están delecionados, sustituidos o añadidos en el resto(s) aminoacídico(s) distinto del primero al cuarto aminoácido desde el extremo amino terminal en una secuencia de aminoácidos del primero al decimoquinto aminoácido desde el extremo amino terminal de una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID Nos: 1 a 22, y el segundo o tercer aminoácido desde el extremo amino terminal tiene la fórmula (1) mencionada anteriormente.

2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el segundo o tercer resto aminoacídico desde el extremo amino terminal del derivado polipeptídico (i) tiene un grupo representado por la fórmula (2);



- 5 {en la que R³ representa -T²-P²-Q² (en la que T² representa un grupo alquileo C₁₋₆, un grupo alquenileno C₂₋₆, o un grupo alquileo C_{1,4}-fenileno, P² representa -CO-O-, -O-CO-, -O-, -S-, -S-S-, -CO-NR⁴- o -NR⁴-CS- (R⁴ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₄), y Q² representa un grupo alquilo C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, un grupo alquenilo C₂₋₂₀ opcionalmente sustituido, un grupo cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo alquileo C₁₋₆ - cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido, un grupo arilo C₆₋₁₄ opcionalmente sustituido o un grupo aralquilo C₇₋₁₆ opcionalmente sustituido), o -P²-Q² (en la que P² y Q² son iguales a lo definido anteriormente)}.
- 10 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que T² es un grupo alquileo C₁₋₆, P² es -O-CO-, y Q² es un grupo alquilo C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido.
4. El uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que T² es metileno o etileno, P² es -O-CO-, y Q² es un grupo alquilo C₁₋₂₀.
- 15 5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que Q² es un grupo alquilo C₇.
6. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que las secuencias de aminoácido de SEQ ID Nos: 1 a 22 son cualquiera de las secuencias de aminoácidos de SEQ ID Nos: 1 a 10 o SEQ ID No: 22.
- 20 7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que un aminoácido básico está unido adicionalmente al extremo carboxilo terminal.
- 25 8. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el grupo carboxilo en el extremo carboxilo terminal forma una sal, un éster o una amida.
9. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que las dosis por día son de 0,001 a 100 mg.

Fig. 1

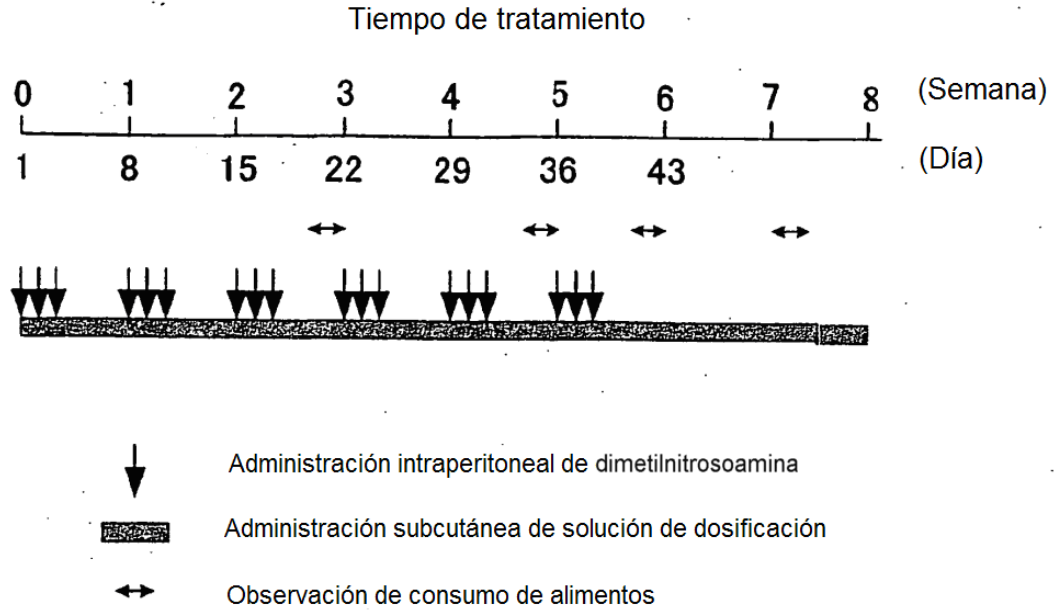


Fig. 2

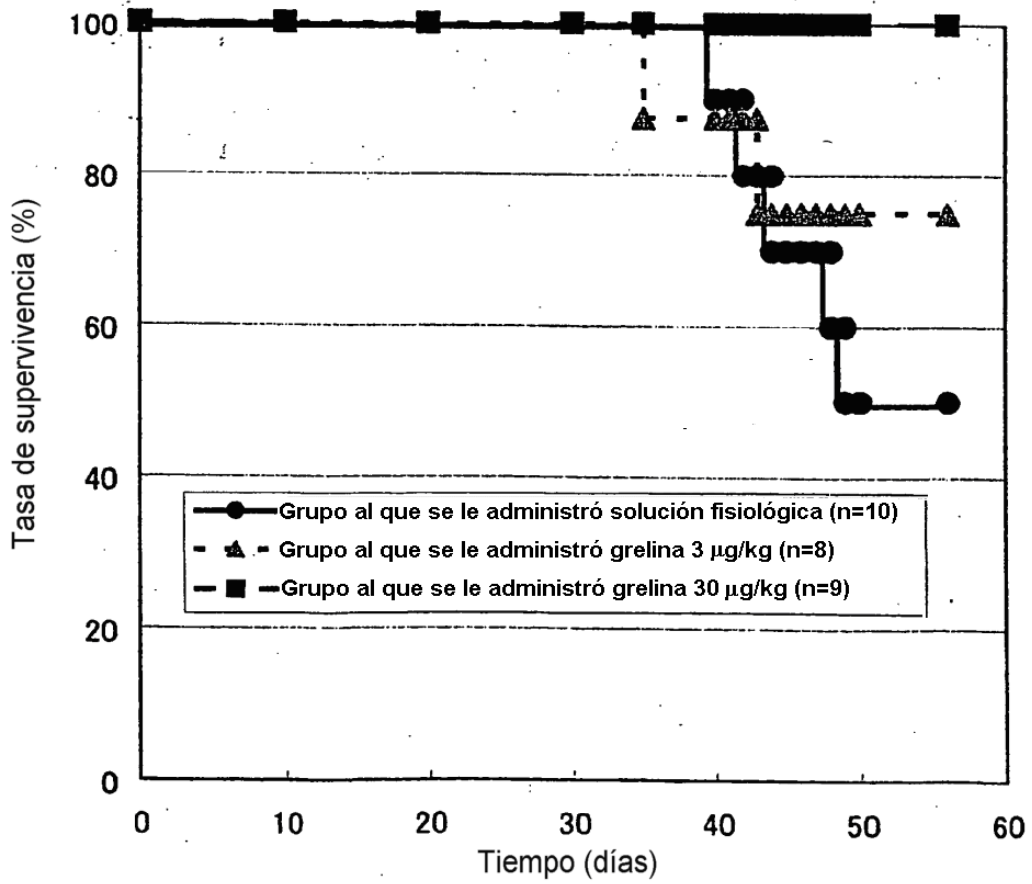
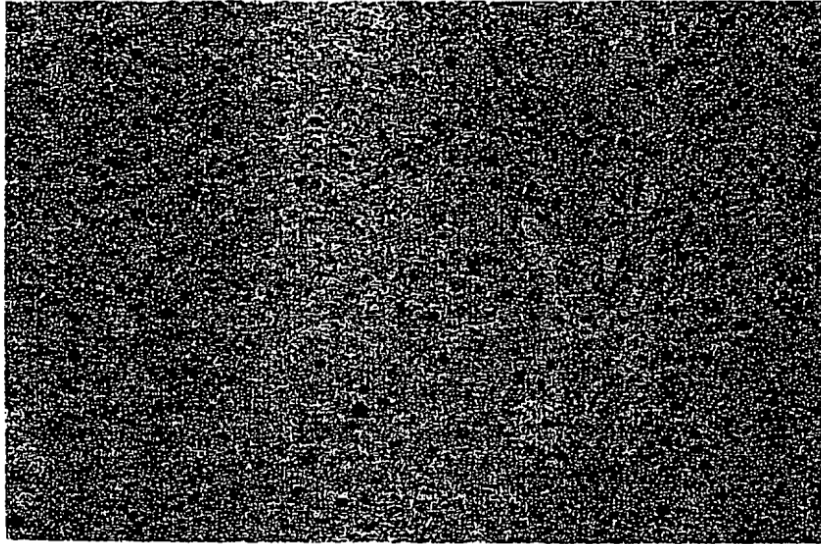
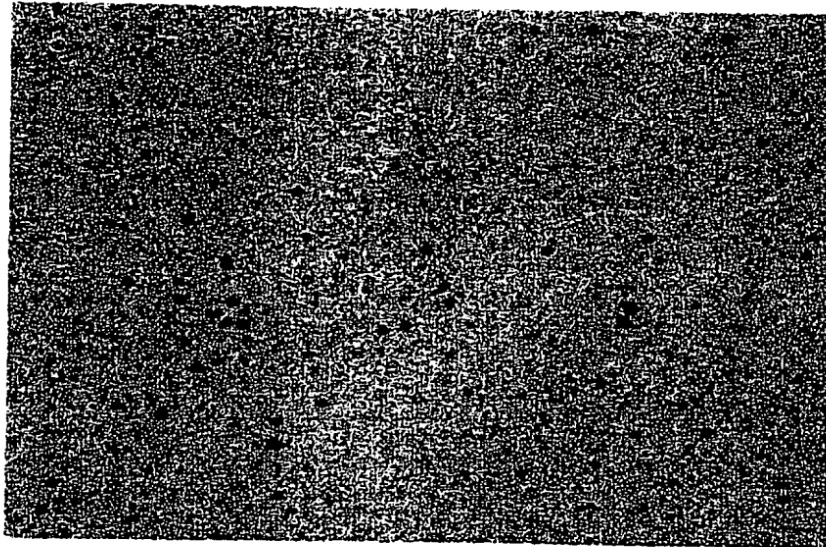


Fig. 3

A



B



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- WO 0107475 A [0006] [0065]
- WO 0156592 A [0007]
- WO 0192292 A [0009]
- JP 2003106533 A [0065]

10 Literatura no patente citada en la descripción

- **Yuichi Murakami ; Kazu Yoshimura.** Internal drug Book 3. Nakayama-Shoten Co., Ltd, 1987 [0006]
- **Matsuda.** Preventive and therapeutic effects in rats of hepatocyte growth factor infusion on liver fibrosis/cirrhosis. *Hepatology*, 1997, vol. 26 (1), 81-89 [0006]
- **Takahiro Ueki.** Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nature Drug*, 1999, vol. 5, 226-230 [0006]
- **Hironori Taniguchi et al.** Hepatic Fibrosis Suppression Mechanism of Interferon. *Advanced drug*, 2000, vol. 55, 1803-1806 [0006]
- **Asakawa.** *Journal of Endocrinology Investment*, 1989, vol. 12, 343-347 [0006]
- **Ekberg.** *Journal of Endocrinology*, 1992, vol. 135, 59-67 [0006]
- **Skrtic.** *Endocrinology*, 1997, vol. 138, 4683-4689 [0006]
- **Richman.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1976, vol. 73, 3589-3593 [0006]
- **E. M. Webber.** In vivo response of hepatocytes to growth factors requires an initial priming stimulus. *Hepatology*, 1994, vol. 19 (2), 489-497 [0006]
- **Andrew D. Howard.** A Receptor in Pituitary and Hypothalamus That Functions in Growth Hormone Release. *Science*, 1996, vol. 273, 974-977 [0006]
- **Masayasu Kojima.** Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 1999, vol. 402, 656-659 [0006]
- **Wren.** *Endocrinology*, 2000, vol. 141, 4325-4328 [0006]
- **Masamitsu Nakazato.** A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001, vol. 409, 194-198 [0006]
- **Mitsuyo Shintani.** Ghrelin, an Endogenous Growth Hormone Secretagogue, Is a Novel Orexigenic Peptide That Antagonizes Leptin Action Through the Activation of Hypothalamic Neuropeptide Y/Y1 Receptor Pathway. *Diabetes*, 2001, vol. 50, 227-232 [0006]
- **Donaghy et al.** *Gastroenterology*, 1997, vol. 113, 1617-1622 [0008]
- **Wallace et al.** *J. Clin. Endocrin. & Metab.*, 2002, vol. 87 (6), 2751-2759 [0008]
- **Assy et al.** *J. Hepatology*, 1997, vol. 27, 796-802 [0008]
- **Yamamura ; Yoshitoshi.** Internal Drug Book 3. Nakayama-Shoten Co., Ltd, 1987, 1095-1250 [0100]
- **Sharon L. et al.** *Circulation*, 1988, vol. 78, 428-434 [0102]
- **Kawai J. et al.** *Hypertens. Res.*, 2002, vol. 25, 441-446 [0102]
- **Yamamura ; Yoshitoshi.** Internal Drug Book 3. Nakayama syoten, 1987, 1095-1250 [0106]
- **Yamamura ; yoshitoshi.** Internal Drug Book 3. Nakayama-Shoten Co., Ltd, 1987, 1095-1250 [0107]