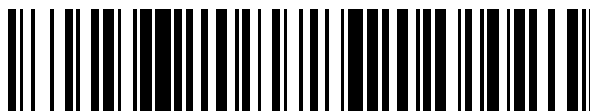


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 062**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/575** (2006.01)

**A61K 38/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2006 E 10012149 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015 EP 2330124**

54 Título: **Polipéptidos híbridos con propiedades seleccionables**

30 Prioridad:

**11.08.2005 US 201664**

**17.08.2005 US 206903**

**12.12.2005 US 301744**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**02.06.2015**

73 Titular/es:

**AMYLIN PHARMACEUTICALS, LLC (50.0%)**

**9360 Towne Centre Drive**

**San Diego, CA 92121, US y**

**ASTRAZENECA PHARMACEUTICALS LP (50.0%)**

72 Inventor/es:

**LEVY, ODILE ESTHER;**

**HANLEY, MICHAEL R.;**

**JODKA, CAROLYN M.;**

**LEWIS, DIANA;**

**SOARES, CHRISTOPHER J.;**

**GHOSH, SOUMITRA S.;**

**D'SOUZA, LAWRENCE;**

**PARKES, DAVID G.;**

**MACK, CHRISTINE M. y**

**FOROOD, BEHROUZ BRUCE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 537 062 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Polipéptidos híbridos con propiedades seleccionables

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención está relacionada con química de péptidos y más particularmente con polipéptidos híbridos con propiedades seleccionables.

## 10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La regulación de los niveles de insulina y glucemia es primordial para muchas enfermedades y trastornos metabólicos. La secreción de insulina está modulada en parte por hormonas secretagogas, denominadas incretinas, producidas por células enteroendocrinas. La hormona incretina, péptido 1 similar a glucagón ("GLP-1"), es una hormona peptídica secretada por células intestinales que, en múltiples estudios, se ha demostrado que produce un efecto potenciador sobre la secreción de insulina. El GLP-1 se procesa a partir de proglucagón en el intestino y potencia la liberación de insulina inducida por nutrientes (Krcymann B., *et al.*, *Lancet*, 2: 1300-1303 (1987)). Se sabe que diversas formas truncadas de GLP-1 estimulan la secreción de insulina (acción insulínica) y la formación de AMPc [véase, por ejemplo, Mojsov, S., *Int. J. Pep. Pro. Res.*, 40: 333-343 (1992)]. Se ha establecido una relación entre los diversos experimentos de laboratorio realizados *in vitro* y las respuestas insulínicas en mamíferos, especialmente en seres humanos, con la administración exógena de GLP-1, GLP-1(7-36) amida (SEC ID N°: 61) y GLP-1(7-37) ácido (SEC ID N°: 204) (véase, por ejemplo, Nauck, M. A., *et al.*, *Diabetologia*, 36: 741-744 (1993); Gutniak, M., *et al.*, *New Eng. J. of Med.*, 326(20): 1316-1322 (1992); Nauck, M. A., *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 91: 301-307 (1993); y Thorens, B., *et al.*, *Diabetes*, 42: 1219-1225 (1993)).

El GLP-1(7-36) amida (SEC ID N°: 61) ejerce un efecto antidiabético pronunciado en diabéticos insulín-dependientes estimulando la sensibilidad a la insulina y potenciando la liberación de insulina inducida por glucosa a concentraciones fisiológicas (Gutniak M., *et al.*, *New Eng. J. Med.*, 326: 1316-1322 (1992)). Cuando se administra a diabéticos no insulín-dependientes, el GLP-1(7-36) amida (SEC ID N°: 61) estimula la liberación de insulina, disminuye la secreción de glucagón, inhibe el vaciado gástrico y potencia la utilización de la glucosa (Nauck, 1993; Gutniak, 1992; Nauck, 1993). Sin embargo, el uso de moléculas de tipo GLP-1 durante una terapia de diabetes prolongada se ha complicado dado que la semivida en suero de dichos péptidos es bastante corta.

Más particularmente, el GLP-1 es un péptido de 30 aminoácidos derivado del proglucagón, una prohormona de 160 aminoácidos. Las acciones de diferentes convertasas prohormonales en el páncreas y en el intestino dan como resultado la producción de glucagón y de otros péptidos mal definidos, mientras que la escisión del proglucagón da como resultado la producción de GLP-1 y GLP-2 así como de otros dos péptidos. La secuencia de aminoácidos de GLP-1 es 100 % homóloga en todos los mamíferos hasta ahora estudiados, lo que implica un papel fisiológico crítico. El GLP-1 (7-37) ácido está truncado y amidado en el extremo C para formar GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N°: 61). Los efectos biológicos y la renovación metabólica del GLP-1 (7-37) OH libre de ácido (SEC ID N°: 204), y la amida, GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N°: 61), son indistinguibles. Por convención, la numeración de los aminoácidos se basa en el GLP-1 (1-37) OH (SEC ID N°: 59) procesado a partir del proglucagón. El GLP-1 biológicamente activo es el resultado de un procesamiento adicional: GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N°: 61). Por tanto, el primer aminoácido de GLP-1 (7-37) OH (SEC ID N°: 204) o GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N°: 61) es <sup>7</sup>His.

En el tracto gastrointestinal, el GLP-1 lo producen las células L de la mucosa intestinal, colónica y rectal, en respuesta a la estimulación por la glucosa intraluminal. La semivida en plasma del GLP-1 activo es < 5 minutos y su tasa de eliminación metabólica es de aproximadamente 12-13 minutos (Holst, *Gastroenterology* 107(6): 1848-55 (1994)). La principal proteasa implicada en el metabolismo del GLP-1 es la dipeptidil peptidasa (DPP) IV (CD26) que escinde el dipéptido His-Ala N terminal, produciendo de este modo metabolitos, GLP-1 (9-37) OH (SEC ID N°: 205) o GLP-1 (9-36) NH<sub>2</sub> (SEC ID N°: 206) que se describen de diversos modos como antagonistas o agonistas inactivos, débiles, del receptor de GLP-1. El receptor de GLP-1 (GLP-1R) es un receptor acoplado a la proteína G de 463 aminoácidos y se localiza en las células beta pancreáticas, en los pulmones, y a un menor grado en el cerebro, tejido adiposo y riñones. La estimulación de GLP-1R por GLP-1 (7-37) OH (SEC ID N°: 204) o GLP-1 (7-36)NH<sub>2</sub> (SEC ID N°: 61) da como resultado la activación de la adenilato ciclasa, la síntesis de AMPc, la despolarización de la membrana, el aumento del calcio intracelular y el aumento de la secreción de insulina inducida por glucosa (Holz *et al.*, *J. Biol. Chem.* 270(30): 17749-57 (1995)).

El GLP-1 es un fuerte secretagogo de insulina que se secreta a partir de la mucosa intestinal en respuesta a la ingesta de alimento. El efecto profundo de la incretina de GLP-1 está acentuado por el hecho de que ratones GLP-1R genosuprimidos (*knockout*) son intolerantes a la glucosa. La respuesta de la incretina del GLP-1 infundido i.v. se preserva en sujetos diabéticos, aunque la respuesta de la incretina a la glucosa oral en estos pacientes está comprometida. La administración de GLP-1 por infusión o por inyecciones s.c. controla los niveles de la glucosa en ayunas en los pacientes diabéticos y mantiene el umbral de glucosa para la secreción de la insulina (Gutniak *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 326: 1316-22 (1992); Nauck *et al.*, *Diabet. Med.* 13(9 Suppl 5):S39-S43 (1996); Nauck *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 76: 912-917 (1993)). El GLP-1 ha mostrado un tremendo potencial como un agente terapéutico

capaz de aumentar la secreción de insulina de una manera fisiológica, al mismo tiempo que evita la hipoglucemia asociada con fármacos de sulfonilurea.

Otros efectos importantes del GLP-1 sobre la homeostasis de la glucosa son la supresión de la secreción de glucagón y la inhibición de la motilidad gástrica. Las acciones inhibitorias del GLP-1 sobre la selección de células alfa pancreáticas de glucagón conducen a disminuir la producción de glucosa hepática mediante la reducción de la gluconeogénesis y la glucogenolisis. Este efecto antiglucagón del GLP-1 está preservado en pacientes diabéticos.

El efecto denominado freno ileal del GLP-1, en el que tanto la motilidad como la secreción gástrica están inhibidas, se efectúa mediante receptores eferentes vagales o por acción directa sobre el músculo liso intestinal. La reducción de la secreción de ácido gástrico por GLP-1 contribuye a una fase de latencia en la disponibilidad de nutrientes, obviando por tanto la necesidad de una respuesta rápida a la insulina. En resumen, los efectos gastrointestinales del GLP-1 contribuyen significativamente a retrasar la absorción de glucosa y ácidos grasos y a modular la secreción de insulina y la homeostasis de la glucosa.

También se ha observado que el GLP-1 induce genes específicos de células beta, tales como el transportador de GLUT-1, insulina (mediante la interacción de PDX-1 con el promotor del gen de insulina) y hexoquinasa-1. Por tanto, el GLP-1 invertiría potencialmente la intolerancia a la glucosa normalmente asociada con el envejecimiento, como lo demuestran experimentos realizados con roedores. Además, el GLP-1 puede contribuir a la neogénesis de células beta y a aumentar la masa de células beta, además de reestablecer la función de las células beta durante estados de insuficiencia de células beta.

Los efectos fundamentales del GLP-1 incluyen aumentos en la saciedad junto con disminuciones en la ingesta de alimento, efectuado mediante la acción del GLP-1R hipotalámico. Una infusión SC continua durante 48 horas de GLP-1 en sujetos con diabetes de tipo II, disminuye el apetito y la ingesta de alimento y aumenta la saciedad. Estos efectos anoréxicos están ausentes en ratones GLP-1R genosuprimidos (*knockout*).

Las exendinas son otra familia de péptidos implicada en la secreción de insulina. Las exendinas se encuentran en la saliva del monstruo de Gila, un lagarto endógeno de Arizona, y del Lagarto Moteado Mexicano. La exendina-3 está presente en la saliva de *Heloderma horridum*, y la exendina-4 está presente en la saliva de *Heloderma suspectum* (Eng, J., *et al.*, J. Biol. Chem., 265: 20259-62, 1990; Eng, J., *et al.*, J. Biol. Chem., 267: 7402-05 (1992)). Las exendinas tienen cierta similitud de secuencia con diversos miembros de la familia de péptidos similares a glucagón, siendo del 53 % la identidad más alta para el GLP-1 (Goke, *et al.*, J. Biol. Chem., 268: 19650-55 (1993)).

La exendina-4 se une a los receptores de GLP-1 en células TC1 secretoras de insulina, en células acinares dispersas de páncreas de cobaya, y en células parietales estomacales; el péptido también estimula la liberación de somatostatina e inhibe la liberación de gastrina en estómagos aislados (Goke, *et al.*, J. Biol. Chem., 268: 19650-55 (1993); Schepp, *et al.*, Eur. J. Pharmacol., 69: 183-91 (1994); Eissele, *et al.*, Life Sci., 55: 629-34 (1994)). Se descubrió que, tanto la exendina-3 como la exendina-4, se unían a receptores de GLP-1, estimulando la producción de AMPc en, y liberando amilasa de, en células acinares pancreáticas (Malhotra, R., *et al.*, Regulatory Peptides, 41: 149-56 (1992); Raufman, *et al.*, J. Biol. Chem., 267: 21432-37 (1992); Singh, *et al.*, Regul. Pept., 53: 47-59 (1994)). Se ha propuesto el uso de las actividades insulínótropicas de la exendina-3 y de la exendina-4 para el tratamiento de la diabetes mellitus y para la prevención de la hiperglucemia (Eng, Patente de Estados Unidos N° 5.424.286).

Se ha indicado que los péptidos truncados de la exendina, tales como exendina[9-39], una molécula carboxiamidada, y los fragmentos 3-39 a 9-39 son antagonistas fuertes y selectivos de GLP-1 (Goke, *et al.*, J. Biol. Chem., 268: 19650-55 (1993); Raufman, J. P., *et al.*, J. Biol. Chem., 266: 2897-902 (1991); Schepp, W., *et al.*, Eur. J. Pharm., 269: 183-91 (1994); Montrose-Rafizadeh, *et al.*, Diabetes, 45(Suppl. 2): 152A (1996)). La exendina[9-39] (SEC ID N°: 207) bloquea al GLP-1 endógeno *in vivo*, dando como resultado la secreción de insulina reducida (Wang, *et al.*, J. Clin. Invest., 95: 417-21 (1995); D'Alessio, *et al.*, J. Clin. Invest., 97:1 33-38 (1996)). El receptor aparentemente responsable del efecto insulínótropico de GLP-1 se ha clonado de células de los islotes pancreáticos de rata (Thorens, B., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 8641-8645 (1992)). Las exendinas y la exendina[9-39] se unen al receptor de GLP-1 clonado (receptor de GLP-1 de células pancreáticas de rata: Fehmann HC, *et al.*, Peptides, 15 (3): 453-6 (1994); receptor de GLP-1 humano: Thorens B, *et al.*, Diabetes, 42 (11): 1678-82 (1993)). En células transfectadas con el receptor de GLP-1 clonado, la exendina-4 es una agonista, es decir, aumenta el AMPc, mientras que la exendina[9-39] (SEC ID N°: 207) es una antagonista, es decir, bloquea las acciones estimuladoras de la exendina-4 y del GLP-1. *Id.*

Más particularmente, la exendina-4 es un péptido amidado C terminal de 39 aminoácidos encontrado en la saliva del Monstruo de Gila (*Heloderma suspectum*), con una identidad de secuencia de aminoácidos de 53 % con la secuencia peptídica de GLP-1. Véase, por ejemplo, Eng, J., *et al.* "Isolation and Characterization of Exendina-4, and Exendin-3 Analogue from *Heloderma suspectum* Venom", J. Bio. Chem., 267: 11, págs. 7402-7405 (1992), Young, A. A., *et al.*, "Glucose-Lowering and Insulin-Sensitizing Actions of Exendina-4", Diabetes, Vol. 48, p. 1026-1034, May, 1999. En cuanto a su actividad, la exendina-4 es un agonista altamente específico para el receptor de GLP-1, y, al igual que el GLP-1, puede estimular la secreción de insulina. Por lo tanto, al igual que el GLP-1, la exendina-4 se considera que es un péptido insulínótropico.

Sin embargo, a diferencia del GLP-1, la exendina-4 tiene una semivida relativamente larga en seres humanos, debido a su resistencia a la dipeptidil peptidasa IV que degrada rápidamente la secuencia del GLP-1 *in vivo*. Además, se ha observado que, cuando se compara con GLP-1, la exendina-4 tiene una capacidad más fuerte para estimular la secreción de insulina, y que puede usarse una menor concentración de exendina-4 para obtener dicha actividad estimuladora. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 5.424.286, incorporada en el presente documento por referencia. Por lo tanto, los péptidos de exendina-4 o sus derivados (para ejemplos de dichos derivados, véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 6.528.486, incorporada en el presente documento por referencia, y su solicitud internacional WO 01/04156 correspondiente) tienen una mayor posible utilidad para el tratamiento de afecciones que implican la desregulación de los niveles de insulina (por ejemplo, afecciones tales como diabetes) que cualquiera de insulina o GLP-1.

Otra familia de hormonas peptídicas implicada en enfermedades y trastornos metabólicos es la familia de hormonas peptídicas de la amilina, que incluyen amilina, calcitonina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, adrenomedulina e intermedina (también conocida como "AFP-6"). La amilina es una hormona peptídica de 37 aminoácidos. Esta se aisló, se purificó y se caracterizó químicamente como el componente principal de depósitos amiloideos en los islotes de páncreas de seres humanos con diabetes de Tipo 2 (Cooper *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84: 8628-8632 (1987)). La molécula de amilina tiene dos modificaciones postraduccionales: el extremo C está amidado y las cisteínas de las posiciones 2 y 7 están entrecruzadas para formar un bucle N terminal. La secuencia de la fase de lectura abierta del gen de la amilina humana muestra la presencia de la señal de escisión proteolítica de aminoácidos dibásicos Lys-Arg, antes del codón N terminal de Lys, y la Gly antes de la señal proteolítica de Lys-Arg en la posición terminal CLAIMS, una secuencia típica para la amidación mediante la enzima de amidación de proteínas, PAM (Cooper *et al.*, Biochem. Biophys. Acta, 1014: 247-258 (1989)).

Se piensa que la amilina regula el vaciado gástrico y que suprime la secreción de glucagón y la ingesta de alimento, regulando de este modo la tasa de aparición de la glucosa en la circulación. Parece complementar las acciones de la insulina, que regula la tasa de desaparición de la glucosa de la circulación y su captación por tejidos periféricos. Estas acciones se confirman mediante hallazgos experimentales realizados en roedores y en seres humanos, que indican que la amilina complementa los efectos de la insulina en el control de la glucosa postprandial mediante al menos tres mecanismos independientes, todos ellos afectando a la tasa de aparición de la glucosa. En primer lugar, la amilina suprime la secreción de glucagón postprandial. En comparación con adultos sanos, los pacientes con diabetes de tipo 1 no tienen amilina en la circulación y los pacientes con diabetes de tipo 2 tienen concentraciones disminuidas de amilina postprandial. Además, la infusión de un anticuerpo monoclonal específico de amilina, que se unió a la amilina en circulación, de nuevo dio como resultado concentraciones de glucagón enormemente elevadas en relación con controles. Estos dos resultados apuntan a un papel fisiológico de la amilina endógena en la regulación de la secreción de glucagón postprandial. En segundo lugar, la amilina muestra motilidad gastrointestinal y vaciado gástrico. Finalmente, se mostró que inyecciones intrahipotalámicas de amilina de rata reducían la alimentación en ratas y alteraban el metabolismo neurotransmisor en el hipotálamo. En determinados estudios, la ingesta de alimento se redujo significativamente durante hasta ocho horas después de una inyección intrahipotalámica de amilina de rata y CGRP de rata. En ensayos clínicos humanos, se ha observado que, la pramlintida, un análogo de la amilina, reduce el peso o el aumento de peso. La amilina puede ser beneficiosa en el tratamiento de afecciones metabólicas, tales como diabetes y obesidad. La amilina también puede usarse para tratar el dolor, los trastornos óseos, la gastritis, para modular lípidos, en particular triglicéridos, o puede afectar a la composición corporal, tal como a la pérdida preferencial de grasa y moderada de tejido magro.

La hormona calcitonina (CT) recibió este nombre por su secreción en respuesta a la hipercalcemia inducida y por su rápido efecto hipocalcémico. Las células neuroendocrinas del tiroides producen y secretan esta hormona, por lo que se han denominado células C. La acción mejor estudiada de la CT(1-32) (SEC ID N°: 48) es su efecto en los osteoclastos. Los efectos *in vitro* de la CT incluyen la rápida pérdida de bordes erizados y la liberación disminuida de enzimas lisosomales. Finalmente, la inhibición de las funciones de los osteoclastos a través de la CT da como resultado una disminución de la reabsorción ósea. Sin embargo, ni una reducción crónica de la CT en suero, en el caso de tiroidectomía, ni el aumento de la CT en suero, encontrado en cáncer medular tiroideo, parece estar asociado con cambios en el calcio en suero o en la masa ósea. Es por tanto más probable que una función principal de la CT(1-32) (SEC ID N°: 48) sea combatir la hipercalcemia aguda en situaciones de emergencia y/o proteger el esqueleto durante periodos de "estrés de calcio" tales como crecimiento, gestación y lactancia (Reviewed in Becker, JCEM, 89(4): 1512-1525 (2004) and Sexton, Current Medicinal Chemistry 6: 1067-1093 (1999)). De acuerdo con estos datos recientes de ratones con genosupresión de calcitonina, que suprimen los dos péptidos, la calcitonina y el CGRP-I, revelan que el ratón tenía niveles normales de valores basales relacionados con calcio, aunque una respuesta calcémica aumentada (Kurihara H, *et al.*, Hypertens Res. 2003 Feb; 26 Suppl:S105-8). La CT tiene un efecto sobre los niveles plasmáticos de calcio e inhibe la función de los osteoclastos y se usa ampliamente para el tratamiento de la osteoporosis. Terapéuticamente, la calcitonina de salmón (sCT) parece aumentar la densidad ósea y disminuir las tasas de fracturas con efectos adversos mínimos. La CT también se ha usado satisfactoriamente durante los últimos 25 años como una terapia para la enfermedad ósea de Paget, que es un trastorno esquelético crónico que puede dar como resultado huesos alargados o deformes en una o más regiones del esqueleto. La calcitonina también se usa mucho por su efecto analgésico para el dolor óseo que se padece durante la osteoporosis, aunque el mecanismo de este efecto no queda claro.

El péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP) es un neuropéptido cuyos receptores están ampliamente distribuidos en el organismo, incluyendo el sistema nervioso y el sistema cardiovascular. Este péptido parece modular la neurotransmisión sensorial y es uno de los péptidos vasodilatadores endógenos más potentes descubiertos hasta ahora. Los efectos biológicos indicados del CGRP incluyen: modulación de la sustancia P durante la inflamación, actividad de receptores nicotínicos en la conexión neuromuscular, estimulación de la secreción de enzimas pancreáticas, una reducción de la secreción de ácido gástrico, vasodilatación periférica, aceleración cardíaca, neuromodulación, regulación del metabolismo del calcio, estimulación osteogénica, secreción de insulina y aumento de la temperatura corporal y disminución de la ingesta del alimento (Wimalawansa, Amylin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin and ADM: a peptide superfamily. Crit Rev Neurobiol. 1997; 11(2-3):167-239). Un papel importante del CGRP es controlar el flujo sanguíneo en diversos órganos a través de sus potentes acciones vasodilatadoras, como lo demuestra la disminución de la presión arterial media después de la administración intravenosa de  $\alpha$ -CGRP. Las acciones vasodilatadoras también se confirman por análisis recientes efectuados en ratones homocigotos con genosupresión (*knockout*) de CGRP, que demuestran resistencia muscular periférica elevada y alta presión arterial causada por el aumento de la actividad simpática periférica (Kurihara H, *et al.*, Targeted disruption of ADM and  $\alpha$ CGRP genes reveals their distinct biological roles. Hypertens Res. Feb de 2003; 26 Suppl: S105-8). Por tanto, parece que el CGRP provoca efectos vasodilatadores, efectos hipotensivos y un aumento en la frecuencia cardíaca, entre otras acciones.

La infusión prolongada de CGRP en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva ha mostrado un efecto beneficioso prolongado sobre las funciones hemodinámicas sin efectos adversos, lo que sugiere un uso en la insuficiencia cardíaca. Otros síntomas del uso de CGRP incluyen insuficiencia renal, isquemia arterial coronaria aguda y crónica, tratamiento de arritmia cardíaca, otras enfermedades vasculares periféricas tales como fenómeno de Raynaud, hemorragia subaracnoidea, hipertensión e hipertensión pulmonar. Posiblemente, la toxemia preecláptica del embarazo y el parto prematuro también pueden tratarse (Wimalawansa, 1997). Recientes usos terapéuticos incluyen el uso de antagonistas de CGRP para el tratamiento de cefaleas migrañosas.

La adrenomedulina (ADM) se expresa de forma más o menos ubicua en muchos más tejidos que contienen el péptido en comparación con los que no. Una revisión publicada de la ADM (Hinson, J. P. *et al.*, Endocrine Reviews (2000) 21(2): 138-167) detalla sus efectos sobre el sistema cardiovascular, el crecimiento celular, el sistema nervioso central y el sistema endocrino, con una serie de acciones biológicas que incluye vasodilatación, crecimiento celular, regulación de la secreción hormonal y natriuresis. Estudios realizados en rata, gato, oveja y ser humano confirman que la infusión intravenosa de ADM da como resultado una hipotensión fuerte y prolongada, y es comparable a la del CGRP. Sin embargo, el efecto hipotensivo de la ADM sobre la presión arterial media en ratas anestesiadas no está inhibida por el antagonista de CGRP, CGRP<sub>8-37</sub> lo que sugiere que este efecto no está mediado a través de receptores de CGRP. La administración aguda o crónica de ADM de ser humano en ratas, anestesiadas, despiertas e hipertensas, da como resultado una disminución significativa de la resistencia periférica total acompañada por una caída de la presión arterial, con un aumento simultáneo de la frecuencia cardíaca, rendimiento cardíaco y volumen de impulso cardíaco.

La ADM también se ha propuesto como un factor importante en la embriogénesis y diferenciación y como un factor de supervivencia apoptótico para células endoteliales de rata. Esto se confirma mediante estudios recientes realizados en ratones con genosupresión de ADM, en los que ratones homocigotos para la pérdida del gen de la ADM demuestran formación vascular defectuosa durante la embriogénesis y por tanto mueren a mitad de la gestación. Se notificó que ratones ADM +/- heterocigotos tenían presión arterial alta así como susceptibilidad a lesión tisular (Kurihara H, *et al.*, Hypertens Res. 2003 Feb; 26 Suppl: S105-8).

La ADM afecta a órganos endocrinos tales como la pituitaria, la glándula adrenal, órganos reproductores y páncreas. El péptido parece tener un papel en la inhibición de la liberación de ACTH de la pituitaria. En la glándula adrenal, parece afectar a la actividad secretora de la corteza adrenal tanto en ser humano como en rata y aumenta el flujo sanguíneo adrenal, actuando como un vasodilatador en el lecho vascular adrenal en ratas intactas. También se ha mostrado que la ADM está presente en todo el tracto reproductor femenino y que los niveles plasmáticos son elevados durante la gestación normal. Estudios realizados en un modelo de preeclampsia en ratas, muestran que la ADM puede invertir la hipertensión y disminuir la mortalidad de las crías cuando se proporciona a las ratas durante la gestación tardía. Dado que esto no tuvo ningún efecto similar en animales durante la gestación temprana o en ratas no preñadas en el modelo de preeclampsia, esto sugiere que la ADM puede desempeñar un papel regulador importante en el sistema cardiovascular útero-placentario. En el páncreas, la ADM desempeña más probablemente un papel inhibitorio debido a su respuesta atenuada y retardada a la insulina en una exposición a glucosa oral, dando como resultado niveles de glucosa iniciales elevados. La ADM también puede afectar a la función renal. Un bolo administrado periféricamente puede reducir significativamente la presión arterial media y aumentar el flujo sanguíneo renal, la tasa de filtración glomerular y el flujo de orina. En algunos casos, también hay un aumento de excreción de Na<sup>+</sup>.

La ADM también tiene otros efectos periféricos sobre el hueso y el pulmón. Para el hueso, estudios realizados han confirmado un papel más allá del sistema cardiovascular y la homeostasis de fluidos y han demostrado que la ADM actúa sobre osteoblastos fetales y adultos de roedores aumentando el crecimiento celular comparable con aquellos factores de crecimiento de osteoblastos conocidos tales como el factor  $\beta$  de crecimiento transformante. Esto es

- clínicamente importante ya que uno de los principales retos en la investigación de la osteoporosis es desarrollar una terapia que aumente la masa ósea mediante estimulación osteoblástica. En el pulmón, la ADM no solo causa vasodilatación pulmonar, sino que también inhibe la broncoconstricción inducida por histamina o acetilcolina. Recientes estudios usando ADM en aerosol para tratar la hipertensión pulmonar en un modelo de rata indican que el
- 5 tratamiento por inhalación de esta afección es eficaz, como lo demuestra el hecho de que la presión arterial pulmonar media y la resistencia pulmonar total están notablemente disminuidas en ratas tratadas con ADM en comparación con aquellas a las que se proporciona solución salina. Este resultado se obtuvo sin alterar la presión arterial sistémica o la frecuencia cardíaca (Nagaya N *et al.*, *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285: H2125-31).
- 10 En voluntarios sanos, se ha mostrado que la infusión i.v. de ADM reducía la presión arterial y estimulaba la frecuencia cardíaca, el rendimiento cardíaco, los niveles plasmáticos de AMPc, prolactina, norepinefrina y renina. En estos pacientes, se observó escaso aumento, o ninguno, en el volumen de la orina o excreción de sodio. En pacientes con insuficiencia cardíaca o insuficiencia renal crónica, la ADM i.v. tuvo efectos similares a los observados en sujetos normales y también indujo diuresis y natriuresis, dependiendo de la dosis administrada (Nicholls, MG *et al.* *Peptides.* 2001; 22: 1745-1752). El tratamiento experimental con ADM también ha mostrado ser beneficioso en la
- 15 hipertensión arterial y pulmonar, choque séptico y lesión por isquemia/reperfusión (Beltowski J., *Pol J Pharmacol.* 2004; 56: 5-27). Otros síntomas para el tratamiento con ADM incluyen: enfermedad vascular periférica, hemorragia subaracnoidea, hipertensión, toxemia preecláptica de la gestación y parto prematuro y osteoporosis.
- 20 La expresión de AFP-6 (es decir, intermedina) se realiza principalmente en la pituitaria y en el tracto gastrointestinal. No se ha notificado ningún receptor específico de la AFP-6, sin embargo, estudios de unión indican que la AFP-6 se une a todos los receptores conocidos de la Familia de Amilina. La AFP-6 se ha mostrado aumentar la producción de AMPc en células SK-N-MC y L6 que expresan receptores de CGRP endógenos y compite con el CGRP marcado por la unión a sus receptores en estas células. En estudios publicados, realizados *in vivo*, la administración de AFP-6
- 25 condujo a la reducción de la presión arterial tanto en ratas espontáneamente hipertensas como normales, más probablemente mediante interacciones con los receptores de CRLR/RAMP. La administración *in vivo* en ratones condujo a una supresión del vaciado gástrico y a la ingesta de alimento (Roh *et al.* *J Biol Chem.* 2004 Feb 20; 279(8): 7264-74).
- 30 Se ha notificado que las acciones biológicas de las hormonas peptídicas de la familia de la amilina están generalmente mediadas a través de la unión a dos receptores de tipo II acoplados a la proteína G (GPCR) estrechamente relacionados, al receptor de la calcitonina (CTR) y al receptor similar al receptor de la calcitonina (CRLR). La clonación y estudios funcionales han mostrado que el CGRP, la ADM y la amilina interactúan con diferentes combinaciones de CTR o de CRLR y de la proteína modificadora de la actividad del receptor (RAMP).
- 35 Muchas células expresan RAMP múltiples. Se cree que para generar receptores funcionales para la calcitonina, el CGRP, la ADM y la amilina se requiere la coexpresión de las RAMP y del CTR o del CRLR. La familia de la RAMP comprende tres miembros (RAMP1, -2, y -3) que comparten menos del 30 % de identidad de secuencia, pero que tienen una organización topológica común. La coexpresión de CRLR y de RAMP1 conduce a la formación de un receptor para CGRP. La coexpresión de CRLR y RAMP2 conduce a la formación de un receptor para la ADM. La
- 40 coexpresión de CRLR y RAMP3 conduce a la formación de un receptor para la AMD y el CGRP. La coexpresión de hCTR2 y RAMP1 conduce a la formación de un receptor para la amilina y el CGRP. La coexpresión de hCTR2 y RAMP3 conduce a la formación de un receptor para la amilina.
- 45 Otra familia más de hormonas peptídicas implicada en enfermedades y trastornos metabólicos es la familia de la leptina. La forma madura de la leptina en circulación es una proteína de 146 aminoácidos que normalmente está excluida del SCN por la barrera hematoencefálica (BHB) y la barrera CSF sanguínea. Véase, por ejemplo, Weigle *et al.*, 1995. *J Clin Invest* 96: 2065-2070. La leptina es la señal aferente en un bucle de retroalimentación negativo que regula la ingesta de alimento y el peso corporal. El receptor de la leptina es un miembro de la familia de receptores de citocina. El efecto anoréxico de la leptina depende de la unión al homodímero de la isoforma Ob-Rb de este receptor que codifica un dominio intracitoplasmático largo que incluye diversos motivos para la interacción proteína-proteína. La isoforma Ob-Rb se expresa altamente en el hipotálamo lo que sugiere que esta región cerebral es un lugar de acción importante de la leptina. Se ha demostrado que la mutación del gen *ob* de ratón da como resultado un síndrome que exhibe patofisiología que incluye: obesidad, aumento de depósitos de grasa corporal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipotermia y funciones tiroideas y reproductoras alteradas en ratones obesos ob/ob
- 50 homocigotos tanto macho como hembra (véase, por ejemplo, Ingalls, *et al.*, 1950. *J Hered* 41: 317-318). Los usos terapéuticos de la leptina o del receptor de la leptina incluyen (i) diabetes (véanse, por ejemplo, las Solicitudes de Patente PCT WO 98/55139, WO 98/12224 y WO 97/02004); (ii) hematopoyesis (véanse, por ejemplo, las Solicitudes de Patente PCT WO 97/27286 y WO 98/18486); (iii) infertilidad (véanse, por ejemplo, las Solicitudes de Patente PCT WO 97/15322 y WO 98/36763); y (iv) supresión tumoral (véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente PCT WO
- 60 98/48831).
- El gen del receptor de la leptina (OB-R) se ha clonado (Nº de Acceso GenBank AF098792) y se ha mapeado en el locus *db* (véase, por ejemplo, Tartaglia, *et al.*, 1995. *Cell* 83: 1263-1271). También se han identificado diversos transcritos del OB-R, resultantes del corte y empalme alternativo. Defectos en el OB-R producen un síndrome en el ratón ob/ob diabético mutante que es fenotípicamente idéntico al ratón ob/ob (véase, por ejemplo, Ghilardi, *et al.*, 1996. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 6231-6235). Sin embargo, a diferencia de los ratones ob/ob, la administración

de leptina recombinante a ratones C57BLKS/J-m ob/ob no da como resultado la reducción de la ingesta de alimento y del peso corporal (véase, por ejemplo Roberts y Greengerg, 1996. Nutrition Rev. 54: 41-49).

La mayoría de los estudios relacionados con la leptina pueden notificar actividad de pérdida de peso mediante la administración de leptina recombinante, fragmentos de leptina y/o variantes de receptores de leptina que han administrado dichas construcciones directamente en los ventrículos del cerebro. Véase, por ejemplo, Weigle, *et al.*, 1995. J Clin Invest 96: 2065-2070; Barash, *et al.*, 1996. Endocrinology 137: 3144-3147.

Otros estudios han mostrado actividad de pérdida de peso significativa debido a la administración de péptidos de leptina a través de administración intraperitoneal (i.p.) a sujetos de ensayo. Véase, Grasso *et al.*, 1997. Endocrinology 138: 1413-1418. Además, se ha notificado que fragmentos de leptina, y más particularmente un fragmento de 18 aminoácidos que comprende restos extraídos de la leptina humana de longitud completa, actúan en la pérdida de peso, pero solamente después de la administración directa a través de una cánula implantada en el ventrículo lateral del cerebro de ratas. Véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente PTC WO 97/46585.

Otra hormona peptídica implicada en enfermedades y trastornos metabólicos es la colecistoquinina (CCK). Supuestamente, la CCK se identificó en 1928 a partir de preparaciones de extractos intestinales por su capacidad para estimular la contracción de la vesícula biliar. Desde entonces se han notificado otras acciones biológicas de la CCK, incluyendo la estimulación de la secreción pancreática, el vaciado gástrico retardado, la estimulación de la motilidad intestinal y estimulación de la secreción de insulina. Véase, Lieverse *et al.*, Ann. N. Y. Acad Sci. 713: 268-272 (1994). Supuestamente, las acciones de la CCK, también incluyen efectos sobre la función cardiovascular, la función respiratoria, neurotoxicidad y espasmos, proliferación de células cancerosas, analgesia, comportamientos relacionados con el sueño, sexuales y reproductores, comportamientos relacionados con la memoria, ansiedad y mediados por dopamina. Crawley y Corwin, Peptides 15: 731-755 (1994). Otros efectos notificados de la CCK incluyen la estimulación del crecimiento pancreático, estimulación de la contracción de la vesícula biliar, inhibición de secreción de ácido gástrico, liberación de polipéptidos pancreáticos y de un componente de peristaltismo contráctil. Otros efectos notificados de la CCK incluyen vasodilatación. Walsh, "Gastrointestinal Hormones", en Physiology of the Gastrointestinal Tract (3ª ed. 1994; Raven Press, Nueva York).

Se ha notificado que inyecciones de combinaciones de glucagón, CCK y bombesina potencian la inhibición de la ingesta de comidas de ensayo a base de leche condensada en ratas no privadas sobre las inhibiciones observadas con compuestos individuales. Hinton *et al.*, Brain Res. Bull. 17: 615-619 (1986). También se ha notificado que el glucagón y la CCK inhiben sinérgicamente la alimentación simulada en ratas. LeSauter y Geary, Am. J. Physiol. 253: R217-225 (1987); Smith y Gibbs, Annals N. Y. Acad. Sci. 713: 236-241 (1994). También se ha sugerido que el estradiol y la CCK pueden tener un efecto sinérgico sobre la saciedad. Dulawa *et al.*, Peptides 15: 913-918 (1994); Smith y Gibbs, citados anteriormente. También se ha propuesto que las señales que se producen en el intestino delgado en respuesta a nutrientes en su interior pueden interactuar sinérgicamente con la CCK para reducir la ingesta de alimento. Cox, Behav. Brain Res. 38: 35-44 (1990). Adicionalmente, se ha notificado que la CCK induce saciedad en diversas especies. Por ejemplo, se ha notificado que la depresión por alimentación está causada por CCK inyectada por vía intraperitoneal en ratas, por vía intraarterial en cerdos, por vía intravenosa en gatos y en cerdos, en los ventrículos cerebrales en monos, ratas, perros y oveja, y por vía intravenosa en seres humanos obesos y no obesos. Véase, Lieverse *et al.*, citados anteriormente. Estudios de diversos laboratorios han confirmado supuestamente la especificidad conductual de dosis bajas de CCK sobre la inhibición en la alimentación, comparando reforzadores respondedores para alimento con respondedores para sin alimento en monos y ratas y mostrando que la CCK suscita la secuencia de comportamientos normalmente observada después de una ingestión de comida (es decir, la secuencia de saciedad postprandial). Adicionalmente, la comparación del comportamiento después de CCK con el comportamiento después de la ingesta de alimento, solo o en combinación con CCK, ha revelado supuestamente similitudes conductuales entre la CCK y la ingesta de alimento. Crawley y Corwin, citados anteriormente. También se ha notificado que la CCK en concentraciones plasmáticas fisiológicas inhibe la ingesta de alimento y aumenta la saciedad en seres humanos tanto obesos como delgados. Véase Lieverse *et al.*, citados anteriormente.

La CCK se caracterizó en 1966 como un péptido de 33 aminoácidos. Crawley y Corwin, citados anteriormente. Se han identificado variantes moleculares específicas de especie de la secuencia de aminoácidos de la CCK. Supuestamente, la secuencia de 33 aminoácidos y un péptido truncado, su secuencia C terminal de 8 aminoácidos (CCK-8), se ha identificado en cerdo, rata, pollo, chinchilla, perro y ser humano. Supuestamente, se descubrió una secuencia de 39 aminoácidos en cerdo, perro y cobaya. Se notificó una secuencia de 58 aminoácidos que se había descubierto en gato, perro y ser humano. Supuestamente, las secuencias de 47 aminoácidos observadas en rana y tortuga son homólogas tanto a la CCK como a la gastrina. Se ha notificado que el intestino humano muy reciente contiene pequeñas cantidades de una molécula incluso más grande, denominada CCK-83. En la rata, se ha identificado supuestamente una forma intermedia principal y se ha denominado CCK-22. Walsh, "Gastrointestinal Hormones", en Physiology of the Gastrointestinal Tract (3ª ed. 1994; Raven Press, Nueva York). En cerebro de rata se ha informado de una CCK-8 no sulfatada y un tetrapéptido (denominado CCK-4 (CCK(30-33))). El pentapéptido C-terminal (denominado CCK-4 (CCK(29-33))) conserva la homología estructural de la CCK, y también la homología con el neuropéptido gastrina. Supuestamente, la secuencia octapeptídica CCK-8 sulfatada C-terminal, está relativamente conservada entre especies. La clonación y el análisis de secuencias de un ADNc que codifica la

preprocolecistoquinina de carcinoma tiroideo de rata, cerebro porcino e intestino reveló supuestamente 345 nucleótidos que codifican un precursor de la CCK, que tiene 115 aminoácidos y contiene todas las secuencias de la CCK previamente notificadas que se habían aislado. Crawley y Corwin, citados anteriormente.

5 Se dice que la CCK se distribuye a través del sistema nervioso central y en células endocrinas y nervios entéricos del intestino delgado superior. Los agonistas de CCK incluyen la propia CCK (también denominada CCK-33), CCK-8 (CCK(26-33); SEC ID N°: 55), CCK-8 no sulfatada, pentagastrina (CCK-5 o CCK(29-33); SEC ID N°: 209) y el tetrapéptido, CCK-4 (CCK(30-33); SEC ID N°: 208). En el receptor pancreático de CCK, se supone que la unión de CCK-8 está desplazada con una fuerza mayor de 1000-5000 en comparación con la CCK-8 o CCK-4 no sulfatada y se ha notificado que la CCK-8 es aproximadamente 1000 veces más fuerte que la CCK-8 o CCK-4 no sulfatada estimulando la secreción de amilasa pancreática. Crawley y Corwin, citados anteriormente. En homogeneizados de corteza cerebral, se dijo que la unión al receptor de CCK estaba desplazada por la CCK-8 y CCK-4 no sulfatada a concentraciones que eran equimolares, 10 veces o 100 veces mayores que las de la CCK-8 sulfatada.

15 Otra familia más de hormonas peptídicas implicada en enfermedades y trastornos metabólicos es la familia del polipéptido pancreático ("PPF"). El polipéptido pancreático ("PP") se descubrió como un contaminante de extractos de insulina y se denominó por su órgano de origen en lugar de por su importancia funcional (Kimmel *et al.*, *Endocrinology* 83: 1323-30 (1968)). El PP es un péptido de 36 aminoácidos que contiene motivos estructurales característicos. Posteriormente se descubrió un péptido relacionado en extractos de intestino y se denominó Péptido YY ("PYY") debido a sus tirosinas N y C terminales (Tatemoto, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 2514-8 (1982)). Más tarde se descubrió un tercer péptido relacionado en extractos de cerebro y se denominó Neuropéptido Y ("NPY") (Tatemoto, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 5485-9 (1982); Tatemoto *et al.*, *Nature* 296: 659-60 (1982)).

25 Se ha notificado que estos tres péptidos relacionados ejercen diversos efectos biológicos. Los efectos del PP incluyen, inhibición de secreción pancreática y relajación de la vesícula biliar. El PP administrado por vía central produce aumentos moderados en la alimentación que puede mediarse por receptores localizados en el hipotálamo y en el tronco cerebral (revisado en Gehlert, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 218: 7-22 (1998)).

30 La liberación de PYY se produce después de una comida. Una forma molecular alternativa del PYY es el PYY(3-36) (SEC ID N°: 58) (Eberlein *et al.*, *Peptides* 10: 797-803 (1989); Grandt *et al.*, *Regul. Pept.* 51: 151-9 (1994)). Este fragmento constituye aproximadamente el 40 % de inmunoreactividad total similar a PYY en extractos intestinales caninos y humanos y de aproximadamente el 36 % de inmunoreactividad total de PYY en plasma en un estado en ayunas a poco más del 50 % después de una comida. Aparentemente es un producto de escisión dipeptidil peptidasa IV (DPP4) del PYY. Supuestamente, el PYY(3-36) (SEC ID N°: 58) es un ligando selectivo en los receptores de Y2 e Y5, que parece farmacológicamente exclusivo en análogos (es decir, fragmentos C terminales de) NPY truncados en el extremo N. La administración periférica del PYY supuestamente reduce la secreción de ácido gástrico, la motilidad gástrica, la secreción pancreática exocrina (Yoshinaga *et al.*, *Am. J. Physiol.* 263: G695-701 (1992); Guan *et al.*, *Endocrinology* 128: 911-6 (1991); Pappas *et al.*, *Gastroenterology* 91: 1386-9 (1986)), la contracción de la vesícula biliar y la motilidad intestinal (Savage *et al.*, *Gut* 28: 166-70 (1987)). Los efectos de una inyección central de PYY sobre el vaciado gástrico, la motilidad gástrica y la secreción de ácido gástrico, observados después de una inyección directa en o cerca del cerebelo/tronco cerebral (Chen y Rogers, *Am. J. Physiol.* 269: R787-92 (1995); Chen *et al.*, *Regul. Pept.* 61: 95-98 (1996); Yang y Tache, *Am. J. Physiol.* 268: G943-8 (1995); Chen *et al.*, *Neurogastroenterol. Motil.* 9: 109-16 (1997)), pueden ser diferentes a los efectos observados después de una inyección periférica. Por ejemplo, el PYY administrado por vía central tuvo algunos efectos opuestos a los descritos en el presente documento para el PYY(3-36) (SEC ID N°: 58) inyectado por vía periférica, puesto que la secreción de ácido gástrico se estimuló, no se inhibió. La motilidad gástrica se suprimió solo junto con estimulación de TRH, pero no cuando se administraba solo, y fue, de hecho, estimulador a altas dosis a través de una presunta interacción con receptores de PP. Se ha observado que el PYY estimula la ingesta de alimento y agua después de la administración central (Morley *et al.*, *Brain Res.* 341: 200-3 (1985); Corp *et al.*, *Am. J. Physiol.* 259: R317-23 (1990)).

50 Las enfermedades y trastornos metabólicos adoptan muchas formas, que incluyen obesidad, diabetes, dislipidemia, insulinoresistencia, apoptosis celular, etc. La obesidad y sus trastornos asociados son problemas habituales y muy graves de salud pública en los Estados Unidos y en todo el mundo. La obesidad corporal superior es el factor de riesgo más fuerte e importante que se conoce para la diabetes mellitus de tipo 2, y es un fuerte factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular. La obesidad es un factor de riesgo reconocido para hipertensión, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca congestiva, ictus, enfermedad de la vesícula biliar, osteoartritis, apnea del sueño, trastornos reproductores tales como síndrome del ovario poliquístico, cánceres de mama, próstata y colon y aumento de la frecuencia de complicaciones de anestesia general (véase, por ejemplo Kopelman, *Nature* 404: 635-43 (2000)). Reduce la esperanza de vida y conlleva un riesgo grave de las co-morbidades anteriores, así como trastornos tales como infecciones, venas varicosas, acantosis nigricans, eczema, intolerancia al ejercicio, insulinoresistencia, hipertensión, hipercolesterolemia, colelitiasis, lesión ortopédica y enfermedad tromboembólica (Rissanen *et al.*, *Br. Med. J.* 301: 835-7 (1990)). La obesidad es también un factor de riesgo para el grupo de afecciones denominadas síndrome de insulinoresistencia, o "Síndrome X". La estimación reciente del coste médico de la obesidad y sus trastornos asociados es de 150 billones de dólares en todo el mundo. Se piensa que la patogénesis de la obesidad es multifactorial aunque el problema básico es que, en sujetos obesos, la disponibilidad de nutrientes y gasto energético no entran en equilibrio hasta que hay un exceso de tejido adiposo. Actualmente la obesidad es un



trastorno metabólico crónico, fundamentalmente intratable crónico y malamente tratable. Un fármaco terapéutico útil para la reducción de peso de personas obesas podría tener un profundo efecto beneficioso sobre su salud.

La diabetes es un trastorno del metabolismo de hidratos de carbono caracterizado por hiperglucemia y glucosuria que son el resultado de una producción o utilización insuficiente de insulina. La diabetes afecta gravemente a la calidad de vida de una gran parte de las poblaciones en países desarrollados. La producción insuficiente de insulina se caracteriza como diabetes de tipo 1 y la utilización insuficiente de la insulina es la diabetes de tipo 2. Sin embargo, ahora se reconoce ampliamente que hay muchas enfermedades distintas relacionadas con la diabetes que aparecen mucho antes de diagnosticar a los pacientes que tienen diabetes declarada. Además, los efectos del control subóptimo del metabolismo de la glucosa en la diabetes dan lugar a un amplio espectro de trastornos cardiovasculares y lipídicos relacionados.

La dislipidemia, o niveles anómalos de lipoproteínas en el plasma sanguíneo, es una situación frecuente entre personas diabéticas. La dislipidemia se caracteriza típicamente por niveles elevados de triglicéridos en plasma, niveles bajos de HDL (lipoproteína de alta densidad), normal a niveles elevados de colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad) y aumento de los niveles de pequeñas, densas, partículas de LDL (lipoproteína de baja densidad) en la sangre. La dislipidemia es uno de los principales contribuyentes al aumento de la incidencia de eventos coronarios y muertes entre los sujetos diabéticos. Los estudios epidemiológicos han confirmado esto mostrando un aumento de varias veces en las muertes coronarias entre los sujetos diabéticos en comparación con sujetos no diabéticos. Entre los sujetos diabéticos se han descrito diversas anomalías de lipoproteínas.

La insulinoresistencia es la capacidad disminuida de la insulina para ejercer su acción biológica a través de una amplia gama de concentraciones. En la insulinoresistencia, el cuerpo segrega cantidades anormalmente altas de insulina para compensar este defecto y se desarrolla un estado de tolerancia alterada a glucosa. La insulinoresistencia es la capacidad disminuida de la insulina para ejercer su acción biológica a lo largo de una amplia serie de concentraciones. En la insulinoresistencia, el cuerpo segrega normalmente elevadas cantidades de insulina para compensar este defecto y se desarrolla un estado de tolerancia alterada a glucosa. Al no poder compensar la acción de la insulina defectuosa, la concentración de glucosa en plasma se eleva inevitablemente, lo que produce el estado clínico de diabetes. Se reconoce que la insulinoresistencia y la hiperinsulinemia relativa tienen un papel que contribuye a la obesidad, hipertensión, aterosclerosis y diabetes tipo 2. La asociación de la insulinoresistencia con la obesidad, la hipertensión y la angina de pecho se ha descrito como un síndrome, el síndrome X, que tiene insulinoresistencia como el vínculo patogénico común.

La apoptosis es un proceso activo de autodestrucción celular que está regulado por señales extrínsecas e intrínsecas que se producen durante el desarrollo normal. Está bien documentado que la apoptosis desempeña un papel clave en la regulación de las células beta endocrinas pancreáticas. Existe una clara evidencia de que en mamíferos adultos la masa de células beta está sometida a cambios dinámicos para adaptar la producción de insulina al mantenimiento de la euglicemia en estados particulares, tales como la gestación y la obesidad. El control de la masa de células beta depende de un delicado equilibrio entre la proliferación celular, el crecimiento y la muerte celular programada (apoptosis). Un desajuste de este equilibrio puede conducir a una insuficiencia de la homeostasis de la glucosa. Por ejemplo, cabe destacar que la intolerancia a la glucosa se desarrolla con el envejecimiento, cuando se reducen las tasas de replicación de las células beta y estudios de autopsia realizados en seres humanos muestran repetidamente una reducción del 40-60 % de la masa de células beta en pacientes con diabetes mellitus no insulino dependientes en comparación con sujetos no diabéticos. Generalmente esto concuerda con que la insulinoresistencia es un acompañamiento invariable de obesidad pero que la normoglucemia se mantiene mediante la hiperinsulinemia compensatoria hasta que las células beta comienzan a no satisfacer la demanda de insulina aumentada, momento en el que comienza la diabetes de tipo 2.

Los intentos de tratar las múltiples anomalías asociadas con la diabetes han llevado a la administración de varios medicamentos antidiabéticos con el fin de abordar estas anomalías en los diferentes pacientes. Son ejemplos de medicamentos antidiabéticos proteínas tales como la insulina y análogos de insulina, y moléculas pequeñas tales como sensibilizadores de insulina, secretagogos de insulina y compuestos reguladores del apetito.

Continúa existiendo una necesidad de desarrollar polipéptidos útiles en las enfermedades, afecciones y trastornos metabólicos descritos anteriormente. Por consiguiente, es un objeto de la presente invención proporcionar polipéptidos híbridos y métodos para su producción y uso. Los compuestos de la invención se utilizan en las enfermedades, afecciones y trastornos metabólicos descritos anteriormente y en el presente documento.

Todos los documentos mencionados en el presente documento se incorporan por referencia en la presente solicitud tal y como si se ha establecido en el mismo.

#### SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere, como se define en las reivindicaciones, a nuevos polipéptidos híbridos seleccionables útiles como agentes para el tratamiento y la prevención de enfermedades y trastornos metabólicos que pueden aliviarse mediante el control de los niveles de glucosa en plasma, niveles de insulina, y/o secreción de

insulina, tales como la diabetes y afecciones relacionadas con la misma. Dichas afecciones y trastornos incluyen, pero sin limitación, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, trastornos de la alimentación, insulinoresistencia, obesidad y diabetes mellitus de cualquier tipo, incluyendo la diabetes de tipo 1, de tipo 2, y gestacional.

5 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan polipéptidos híbridos que presentan al menos una actividad hormonal. Los polipéptidos híbridos de la divulgación comprenden al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos unidos entre sí por enlace covalente, donde al menos uno de los módulos hormonales peptídicos bioactivos presenta al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente. Los módulos hormonales peptídicos bioactivos se seleccionan independientemente de: hormonas peptídicas componentes, fragmentos de hormonas peptídicas componentes que presentan al menos una actividad hormonal de las hormonas peptídicas componentes, análogos y derivados de hormonas peptídicas componentes que presentan al menos una actividad hormonal de las hormonas peptídicas componentes, fragmentos de análogos y derivados de hormonas peptídicas componentes que presentan al menos una actividad hormonal de las hormonas peptídicas componentes, y potenciadores peptídicos.

En un aspecto de la divulgación un polipéptido híbrido muestra al menos una actividad hormonal, conteniendo el polipéptido híbrido al menos un primer módulo hormonal peptídico bioactivo unido por enlace covalente a al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo adicional, donde los módulos hormonales peptídicos bioactivos se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: hormonas peptídicas componentes; fragmentos de hormonas peptídicas componentes que presentan al menos una actividad hormonal de las hormonas peptídicas componentes; análogos y derivados de las hormonas peptídicas componentes que presentan al menos una actividad hormonal de las hormonas peptídicas componentes; fragmentos de análogos y derivados de hormonas peptídicas componentes que presentan al menos una actividad hormonal de las hormonas peptídicas componentes; y potenciadores peptídicos. Típicamente, las hormonas peptídicas componentes se seleccionan independientemente de al menos dos del grupo que consiste en amilina, adrenomedulina (ADM), calcitonina (CT), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), intermedina, colecistoquinina ("CCK"), leptina, péptido YY (PYY), péptido 1 similar a glucagón (GLP-1), péptido 2 similar a glucagón (GLP-2), oxintomodulina (OXM), un péptido natriurético y exendina-4. Típicamente los potenciadores peptídicos se seleccionan independientemente del grupo que consiste en motivos estructurales de hormonas peptídicas componentes que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasa, unión a proteína plasmática, u otras características farmacocinéticas deseadas, y motivos estructurales de análogos o derivados de hormonas peptídicas componentes que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasa, unión a proteína plasmática, u otras características farmacocinéticas deseadas. En otra realización adicional al menos uno de los módulos hormonales peptídicos bioactivos presenta al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente. En otras realizaciones alternativas adicionales cuando el al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo que presenta al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente es la amilina, un fragmento de amilina que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de amilina que presenta al menos una actividad hormonal, o un fragmento de un análogo derivado de amilina que presenta al menos una actividad hormonal y al menos otro módulo hormonal peptídico bioactivo es CCK, un fragmento de CCK que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de CCK que presenta al menos una actividad hormonal, un fragmento de un análogo o derivado de CCK que presenta al menos una actividad hormonal, CT, un fragmento de CT que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de CT que presenta al menos una actividad hormonal, entonces el polipéptido híbrido puede contener adicionalmente al menos tres módulos hormonales peptídicos bioactivos seleccionados de al menos tres hormonas peptídicas componentes diferentes. En una realización alternativa adicional más, cuando el al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo que presenta al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente es GLP-1, un fragmento de GLP-1 que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de GLP-1 que presenta al menos una actividad hormonal, o un fragmento de un análogo o derivado de GLP-1 que presenta al menos una actividad hormonal, y el al menos otro módulo hormonal peptídico bioactivo es un potenciador peptídico que comprende un fragmento de exendina, entonces el polipéptido híbrido puede contener adicionalmente al menos tres módulos hormonales peptídicos bioactivos.

Las hormonas peptídicas componentes de la divulgación incluyen: amilina, adrenomedulina (ADM), calcitonina (CT), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), intermedina, colecistoquinina ("CCK"), leptina, péptido YY (PYY), péptido 1 similar a glucagón (GLP-1), péptido 2 similar a glucagón (GLP-2), oxintomodulina (OXM), péptidos natriuréticos y exendina-4.

Los potenciadores peptídicos de la divulgación incluyen: motivos estructurales de hormonas peptídicas componentes que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasa, unión a proteína plasmática u otras características farmacocinéticas deseadas, y motivos estructurales de análogos o derivados de hormonas peptídicas componentes que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad

conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasa, unión a proteína plasmática u otras características farmacocinéticas deseadas.

En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para el tratamiento o la prevención de la obesidad, comprendiendo el método administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un polipéptido híbrido de la invención a un sujeto que lo necesite. En una realización preferida, el sujeto es un sujeto obeso o con sobrepeso. Aunque la "obesidad" se define generalmente como un índice de masa corporal superior a 30, para los fines de esta divulgación, cualquier sujeto, incluyendo los sujetos que tengan un índice de masa corporal menor de 30, que necesiten o deseen reducir su peso corporal, se incluyen en la definición de "obeso". Los sujetos con insulinoresistencia, o con intolerancia a la glucosa o que tienen cualquier forma de diabetes mellitus (por ejemplo, de tipo 1, 2 o diabetes gestacional) pueden beneficiarse de este método.

En otro aspecto adicional de la divulgación se proporcionan métodos para reducir la ingesta de alimento, reducir la disponibilidad de nutrientes, ocasionar la pérdida de peso, tratar la diabetes mellitus o afecciones asociadas con la diabetes y mejorar el perfil lipídico (incluyendo la reducción de los niveles de colesterol LDL y de triglicéridos y/o cambiar los niveles de colesterol HDL), en el que los métodos comprenden administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un polipéptido de híbrido de la divulgación. En una realización preferida, los métodos de la divulgación se usan para tratar o prevenir afecciones o trastornos que pueden aliviarse reduciendo la disponibilidad de nutrientes en un sujeto que lo necesite, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un polipéptido híbrido de la divulgación. En otra realización, los métodos de la divulgación se usan para tratar o prevenir afecciones o trastornos que pueden aliviarse mediante el control de los niveles de glucosa en plasma, niveles de insulina y/o secreción de insulina. En otra realización adicional, los métodos de la divulgación se usan para tratar la diabetes y/o afecciones relacionadas con la diabetes. Dichas afecciones y trastornos incluyen, pero sin limitación, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, trastornos relacionados con la alimentación, insulinoresistencia, obesidad y diabetes mellitus de cualquier tipo, incluyendo el Tipo I y Tipo II, y la diabetes gestacional, complicaciones de la diabetes (neuropatía (basada, por ejemplo, en las acciones neurotróficas de la exendina-4), dolor neuropático (basado, por ejemplo, en la acción de la amilina), retinopatía, nefropatía, afecciones de insuficiencia de masa de células beta pancreática (basadas, por ejemplo, en las acciones de la exendina-4 y el GLP-1 sobre la neogénesis de los islotes).

La presente divulgación también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de al menos un polipéptido híbrido de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con diluyentes, conservantes, solubilizantes, emulsionantes, adyuvantes y/o transportadores farmacéuticamente aceptables, útiles en la administración de los polipéptidos híbridos.

Estos y otros aspectos de la invención se entenderán más claramente con referencia a las siguientes realizaciones preferidas y descripción detallada.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 demuestra el efecto de compuestos ejemplares de la invención en un ensayo realizado en ratón OID (con Obesidad Inducida con Dieta).

La Figura 2 demuestra el efecto de compuestos ejemplares de la invención en un ensayo realizado en ratón OID.

Las Figuras 3A-3C demuestran el efecto de compuestos ejemplares de la invención en un ensayo en ratón OID.

Las Figuras 4A-4B demuestran los efectos de compuestos ejemplares de la invención en un ensayo de ingesta de alimento, en comparación con compuestos peptídicos parentales.

Las Figuras 5A-5B demuestran los efectos de compuestos ejemplares de la invención en un ensayo de disminución de glucemia y un ensayo de ingesta de alimento, respectivamente.

La Figura 6 representa las estructuras de diversos enlazadores ejemplares usados en el presente documento.

La Figura 7 representa las estructuras de diversos enlazadores ejemplares así como la secuencia y actividad *in vitro* de híbridos ejemplares de la familia del PYY y de la amilina.

La Figura 8 representa las estructuras de diversos enlazadores ejemplares así como la secuencia y actividad *in vitro* de híbridos adicionales ejemplares de la familia del PYY/PYY.

La Figura 9 representa la reducción de peso corporal por híbridos ejemplares de la familia del PYY y de la amilina.

La Figura 10 represente un gráfico de movilización de calcio por híbridos de la familia de CCK8 en líneas celulares que tienen un receptor de CCK.

Las Figuras 11A, B y C representan la inhibición de alimento por la amilina, por ejemplo, híbridos de la familia de amilina-sCT-amilina y PYY (por ejemplo, la quimera PYY-NPY).

La Figura 12A representa la reducción de ingesta de alimento total y la Figura 12B representa la reducción de peso corporal por híbridos de la familia de amilina-sCT-amilina/PYY. El “\*” indica que el valor de P es <0,05 en comparación con el vehículo.

La Figura 13 representa la inhibición de la ingesta de alimento por híbridos de la familia del PYY/PYY. Las dosis fueron de 25 nmol/kg. Una diferencia de ~15-20 % es estadísticamente significativa.

Las Figuras 14A y 14B representan la inhibición de la actividad de la ingesta de alimento de híbridos de la familia de CCK, bien con un componente de la familia de la amilina o con uno del PYY. Las dosis fueron de 25 nmol/kg. Una diferencia de ~15-20 % es estadísticamente significativa.

Las Figuras 15A y 15B representan la inhibición de la actividad de la ingesta de alimento de híbridos de la familia de MSH con bien un componente de la familia de la amilina o con uno del PYY. Las dosis fueron de 25 nmol/kg. Una diferencia de ~15-20 % es estadísticamente significativa.

La Figura 16A representa la reducción de la ingesta de alimento total y la Figura 16B representa la reducción del peso corporal por híbridos con un componente de la familia de MSH y uno de la amilina, por ejemplo, un componente de la familia de amilina-sCT-amilina. El “\*” indica que el valor de P es <0,05 en comparación con el vehículo.

Las Figuras 17A-D representan la inhibición de la ingesta de alimento por híbridos que contienen un componente de la familia de FN-38 y el componente de la segunda familia indicada. La Figura 17A representa FN38 con un componente de la familia de amilina, el Compuesto 10 quimera de amilina-sCT-amilina. La Figura 17B representa FN38 con un componente de la familia del PYY, PYY-3-36. La Figura 17C representa FN38 con un componente de la familia del PYY. La quimera PYY-NPY. La Figura 17D representa FN38 con un componente de la familia de CCK8, CCK8. Las dosis fueron de 25 nmol/kg. Una diferencia de ~15-20 % es estadísticamente significativa.

Las Figuras 18A y 18B representan la inhibición de la ingesta de alimento por híbridos que contienen componentes de la familia de la exendina y de la familia de la amilina. Salvo que se indique otra cosa las dosis fueron de 25 nmol/kg. Una diferencia de ~15-20 % es estadísticamente significativa.

Las Figuras 19A y 19B representan la inhibición de la ingesta de alimento durante la alimentación en el ciclo de oscuridad y la inhibición prolongada de la ingesta de alimento total por híbridos de la familia de exendina/amilina.

Las Figuras 20A y 20B representan la inhibición crónica de la ingesta de alimento y la pérdida de peso de reserva magra y la actividad de pérdida de grasa de un híbrido ejemplar de la familia de exendina/amilina-sCT-amilina ejemplar en comparación con moléculas parentales. El “\*” indica que el valor de P es <0,05 en comparación con el vehículo.

Las Figuras 21A, B y C demuestran los efectos de los híbridos sobre parámetros metabólicos después de un tratamiento de 14 días en ratas.

Las Figuras 22-29 representan la capacidad de las quimeras del polipéptido de PPF, por ejemplo, los Compuestos quimera PYY-NPY, 4883 y 5705, para reducir la ingesta de alimento acumulativa en los ensayos de ingesta de alimento descritos en el presente documento.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención, como se define en las reivindicaciones, se refiere generalmente a nuevos polipéptidos híbridos, seleccionables, útiles como agentes para el tratamiento y la prevención de enfermedades y trastornos metabólicos que pueden aliviarse mediante el control de los niveles de glucosa en plasma, niveles de insulina y/o secreción de insulina, tales como diabetes y afecciones relacionadas con la diabetes. Dichas afecciones y trastornos incluyen, pero sin limitación, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, trastornos de la alimentación, insulinoresistencia, obesidad y diabetes mellitus de cualquier tipo, incluyendo de tipo 1, de tipo 2 y diabetes gestacional.

En un aspecto, la invención implica el ensamblaje modular de módulos peptídicos fisiológica, metabólica y/o farmacocinéticamente activos que pueden seleccionarse basándose en “bioactividades”, por ejemplo, eficacia

terapéutica, alcance de las funciones, duración de la acción, propiedades fisicoquímicas y/u otras propiedades farmacocinéticas.

5 Sin intentar limitarse a la teoría, la presente invención se refiere, al menos en parte, a una estrategia de "herramientas", en la que los módulos hormonales peptídicos bioactivos están unidos en combinaciones binarias, terciarias o de orden superior, para crear nuevos agentes terapéuticos eficaces con propiedades seleccionables. Los "módulos hormonales peptídicos bioactivos" pueden ser hormonas peptídicas, fragmentos peptídicos con actividad hormonal, o motivos estructurales de hormonas peptídicas que confieren estabilidad química, metabólica y/u otra farmacocinética. Las hormonas peptídicas pueden incluir hormonas peptídicas nativas, así como análogos y derivados de hormonas peptídicas, conocidos en la técnica y descritos en el presente documento.

15 En un aspecto de la invención, se ha descubierto que la combinación de determinadas características fisicoquímicas de dos o más hormonas peptídicas en una sola modalidad puede facilitar la intervención a diversos momentos en un circuito metabólico disfuncional. Como tales, en un aspecto de la invención, se proporcionan polipéptidos híbridos racionalmente diseñados que integran bioactividades seleccionables en un solo agente polipeptídico. En una realización, los polipéptidos híbridos seleccionables de la invención implican el uso de enlazadores químicamente estables, como se define en las reivindicaciones, que unen por enlace covalente a los módulos bioactivos. En otra divulgación, los polipéptidos híbridos seleccionables de la divulgación pueden implicar el uso de enlazadores escindibles, que en sí mismos pueden ser o formar parte de una molécula bioactiva.

20 De nuevo, sin pretender limitarse a la teoría, el diseño de los polipéptidos híbridos de la presente divulgación pueden implicar generalmente: (1) la identificación, selección y emparejamiento de módulos hormonales peptídicos bioactivos para uso terapéutico y eficacia deseados y (2) el ligamiento covalente de los módulos bioactivos (por ejemplo, hormonas peptídicas nativas, análogos o derivados de hormonas peptídicas con actividad hormonal, fragmentos de hormonas peptídicas con actividad hormonal, motivos estabilizantes, etc., bien directamente o mediante un enlazador sin pérdida de bioactividad de los módulos componentes. En determinadas realizaciones, los criterios de selección de los módulos pueden incluir, pero sin limitación: (a) eficacia *in vivo* deseada para una indicación terapéutica o profiláctica deseada, tal como un efecto aditivo o sinérgico; (b) sinergismo opcional o acción dual de los módulos ligados para múltiples indicaciones terapéuticas o profilácticas; y/o (c) una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasa, unión a proteína plasmática y/u otras características farmacocinéticas deseadas.

35 En el presente documento los títulos de las secciones se usan solo con fines organizacionales, y de ninguna manera deben considerarse como limitantes de la materia objeto que se describe.

#### Polipéptidos híbridos de la invención

40 Como se ha mencionado anteriormente, la presente invención definida en las reivindicaciones se refiere en parte a polipéptidos híbridos que comprenden al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos seleccionables de las hormonas peptídicas componentes descritas en el presente documento. Los polipéptidos híbridos de la presente invención serán generalmente útiles en el tratamiento y la prevención de afecciones y trastornos metabólicos. Los polipéptidos híbridos de la invención mostrarán al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente y pueden incluir al menos una bioactividad adicional de una segunda hormona peptídica componente.

45 En una realización, los polipéptidos híbridos de la invención comprenden al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos, en los que cada uno de dichos al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos presenta al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente. En otra divulgación, los polipéptidos híbridos de la divulgación pueden comprender al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos, en los que al menos uno de dichos módulos hormonales peptídicos bioactivos presenta al menos una actividad hormonal de una hormona peptídica componente y al menos uno de dichos módulos hormonales peptídicos bioactivos confiere al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con el receptor, inhibición de proteasa, unión a proteína plasmática y/u otras características farmacocinéticas deseadas.

50 En una realización preferida, los polipéptidos híbridos de la invención pueden tener una fuerza comparable o superior en el tratamiento y/o prevención de afecciones y trastornos metabólicos en comparación con las hormonas peptídicas componentes. En otra realización, los polipéptidos híbridos de la invención pueden tener una fuerza comparable o superior en el tratamiento y/o prevención de la diabetes y/o trastornos relacionados con la diabetes, en comparación con las hormonas peptídicas componentes. Como alternativa, los polipéptidos híbridos preferidos de la invención pueden presentar facilidad de fabricación, estabilidad y/o facilidad de formulación mejoradas, en comparación con las hormonas peptídicas componentes.

65 Más particularmente, los polipéptidos híbridos de la presente invención comprenderán un primer módulo hormonal peptídico bioactivo unido por enlace covalente a al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo adicional. En la divulgación, los módulos hormonales peptídicos bioactivos pueden ligarse entre sí por enlace covalente de cualquier

manera conocida en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, enlaces amida directos o grupos enlazadores químicos, como se describe con mayor detalle en el presente documento. En una divulgación, los grupos enlazadores químicos pueden incluir peptidomiméticos que induzcan o estabilicen la conformación del polipéptido.

5 El primer módulo hormonal peptídico bioactivo puede seleccionarse de una primera hormona peptídica componente, y puede ser una hormona peptídica (incluyendo hormonas peptídicas nativas así como análogos y derivados de las mismas), un fragmento peptídico con actividad hormonal (incluyendo fragmentos de hormonas peptídicas nativas así como análogos y derivados de las mismas) o un motivo estructural de una hormona peptídica (incluyendo hormonas peptídicas nativas así como análogos y derivados de las mismas) que confiere al polipéptido híbrido estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasas, unión con proteínas plasmáticas y/u otras características farmacocinéticas deseadas. Del mismo modo, el módulo (o módulos) peptídico bioactivo adicional puede seleccionarse de hormonas peptídicas componentes y puede ser una hormona peptídica (incluyendo hormonas peptídicas nativas así como análogos derivados de las mismas), un fragmento peptídico con actividad hormonal (incluyendo fragmentos de hormonas peptídicas nativas así como análogos y derivados de las mismas), o un motivo estructural de una hormona peptídica (incluyendo hormonas peptídicas nativas así como análogos y derivados de las mismas) que confiere al polipéptido híbrido estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptor, inhibición de proteasas, unión a proteína plasmática y/u otras características farmacocinéticas deseadas. La primera hormona peptídica y la hormona peptídica adicional pueden ser la misma hormona peptídica, pueden ser de la misma familia de hormonas peptídicas o pueden ser hormonas peptídicas diferentes dependiendo de las características deseadas de los módulos hormonales peptídicos bioactivos.

25 Como se usa en el presente documento, el término "bioactivo" se refiere a (1) actividad biológica en al menos una ruta hormonal *in vivo* o (2) modulación de la eficacia terapéutica, alcance de función, duración de acción, propiedades fisicoquímicas y/u otras propiedades farmacocinéticas de dicha actividad biológica. La actividad biológica puede evaluarse mediante ensayos de unión a receptores hormonales diana o mediante estudios metabólicos que controlan una señal fisiológica, como se sabe en la técnica y se describe en el presente documento. La modulación de la eficacia terapéutica, alcance de función, duración de acción, propiedades fisicoquímicas y/u otras propiedades farmacocinéticas de dicha actividad biológica puede modificarse a través de cambios de, por ejemplo, estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptores, inhibición de proteasas, unión con proteínas plasmáticas y/u otras características farmacocinéticas.

35 En una realización, los polipéptidos híbridos de la invención conservan al menos aproximadamente el 25 %, preferentemente aproximadamente el 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de la actividad biológica de una hormona peptídica componente. Los polipéptidos híbridos preferidos son aquellos que, en uno de los ensayos metabólicos relacionados conocidos en la técnica o descritos en el presente documento (por ejemplo, unión a receptores, ingesta de alimento, vaciado gástrico, secreción pancreática, secreción de insulina, disminución de glucemia, reducción de peso, etc.) tienen una fuerza que es igual a o mayor que la fuerza de la hormona peptídica componente en ese mismo ensayo. Como alternativa, los polipéptidos híbridos preferidos de la invención pueden presentar facilidad de fabricación, estabilidad y/o facilidad de formulación mejoradas, en comparación con las hormonas peptídicas componentes.

45 En otra realización, los polipéptidos híbridos de la invención conservan al menos aproximadamente el 25 %, preferentemente aproximadamente el 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % de la actividad biológica de una hormona peptídica componente nativa con respecto a la reducción de la disponibilidad de nutrientes, la reducción de ingesta de alimento, el efecto del aumento de peso corporal y/o el tratamiento y la prevención de trastornos y afecciones metabólicas. En otra realización adicional, los polipéptidos híbridos de la invención presentan al menos aproximadamente el 110 %, 125 %, 130 %, 140 %, 150 %, 200 % o más de la actividad biológica de una hormona peptídica nativa con respecto a la reducción de la disponibilidad de nutrientes, la reducción de ingesta de alimento, el efecto del aumento de peso corporal y/o el tratamiento y la prevención de trastornos y afecciones metabólicas. En otra realización, los polipéptidos híbridos de la invención presentan actividad agonista de receptores de hormonas peptídicas componentes mejorada.

55 Hormonas peptídicas componentes, Análogos y Derivados

Las hormonas peptídicas componentes generalmente incluyen hormonas peptídicas útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedades y trastornos metabólicos que incluyen: (a) la familia de la amilina, incluyendo la amilina, la adrenomedulina ("ADM"), la calcitonina ("CT"), el péptido relacionado con el gen de la calcitonina ("CGRP"), la intermedina (también conocida como "AFP-6") y péptidos relacionados; (b) la colecistoquinina ("CCK"); (c) la familia de la leptina, incluyendo leptina y péptidos similares a leptina; (d) la familia de polipéptidos pancreáticos, incluyendo el polipéptido pancreático ("PP") y el péptido YY ("PYY"); (e) incretinas y miméticos de incretina, incluyendo: hormonas peptídicas derivadas del gen del proglucagón tales como: glucagón, péptido 1 similar a glucagón ("GLP-1"), péptido 2 similar a glucagón ("GLP-2") y oxintomodulina ("OXM"); y exendinas tales como: exendina-3 y exendina-4; y (f) péptidos natriuréticos incluyendo ANP, BNP, CNP y urodilatina, sus fórmulas

precursoras y péptidos derivados de los mismos (g) la familia de la urocortina y (h) la familia de la neuromedina y análogos, derivados y fragmentos de las mismas. Como se analiza en el presente documento, las hormonas peptídicas componentes de la invención también incluyen análogos y derivados como se define en las reivindicaciones, que conservan actividad hormonal de estas hormonas peptídicas nativas. En una realización, dichos análogos y derivados son agonistas del receptor de la hormona diana.

Por "amilina" se entiende la hormona peptídica humana denominada amilina y secretada por las células beta del páncreas, y variaciones de especies de la misma, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 5.234.906, expedida el 10 de agosto de 1993, en "Hyperglycemic Compositions".

Más particularmente, la amilina es una hormona polipeptídica de 37 aminoácidos normalmente cosecretada con la insulina por las células beta pancreáticas en respuesta a la ingesta de nutrientes (véase, por ejemplo Koda *et al.*, Lancet 339: 1179-1180, 1992). En este sentido, "amilina", "amilina de tipo silvestre" y "amilina nativa", es decir, amilina no modificada, se usan indistintamente.

Por "adrenomedulina" o "ADM" se entiende la hormona peptídica humana y variantes de especies de la misma. Más particularmente, la ADM se genera a partir de una prohormona de 185 aminoácidos a través de escisión enzimática y amidación consecutivas. Este proceso culmina en la liberación de un péptido bioactivo de 52 aminoácidos.

Por "calcitonina" o "CT" se entiende la hormona peptídica humana y variantes de especies de la misma, incluyendo la calcitonina de salmón ("sCT"). Más particularmente, la CT es un péptido de 32 aminoácidos escindido de una prohormona más larga. Contiene un solo enlace disulfuro, que hace que el extremo amino adopte la forma de un anillo. El corte y empalme alternativo del pre-ARNm de la calcitonina puede producir un ARNm que codifica un péptido relacionado con el gen de la calcitonina; este péptido parece funcionar en los sistemas nervioso y vascular. El receptor de la calcitonina se ha clonado y se ha observado que es un miembro de la familia de receptores acoplados a la proteína G de siete dominios transmembrana.

Por "péptido relacionado con el gen de la calcitonina" o "CGRP" se refiere a la hormona peptídica humana y variantes de especies de la misma, en cualquier forma fisiológica.

Por "intermedina" o "AFP-6" se entiende la hormona peptídica humana y variantes de especies de la misma, en cualquier forma fisiológica.

Por "colecistoquinina" o "CCK" se entiende la hormona peptídica humana y variantes de especies de la misma. Más particularmente, la CCK es una secuencia de 33 aminoácidos identificada primero en seres humanos, e incluye un fragmento C terminal *in vivo* de 8 aminoácidos ("CCK-8") que según de informa se ha demostrado en cerdo, rata, pollo, chinchilla, perro y ser humano. Por tanto, el término CCK-33 generalmente se referirá a la CCK(1-33) humana, mientras que la CCK-8 (CCK(26-33); SEC ID N°: 55) se referirá al octapéptido C terminal genéricamente en las formas tanto sulfatada como no sulfatada salvo que se especifique otra cosa. Además, la pentagastrina o CCK-5, se referirá al péptido C terminal CCK(29-33) (SEC ID N°: 209), y CCK-4 se referirá al tetrapéptido C terminal CCK(30-33) (SEC ID N°: 208). Sin embargo, como se usa en el presente documento, CCK se referirá generalmente a todas las variaciones de origen natural de la hormona, incluyendo CCK-33, CCK-8, CCK-5 y CCK-4, en la forma sulfatada y no sulfatada a menos que se especifique otra cosa.

Por "leptina" se entiende la leptina de origen natural de cualquier especie, así como a las isoformas D biológicamente activas, o fragmentos de leptina de origen natural y sus variantes, y combinaciones de las anteriores. La leptina es el producto polipeptídico del gen ob como se describe en la Solicitud de Patente Internacional N° WO 96/05309.

Los supuestos análogos y fragmentos de la leptina se indican en las Patentes de Estados Unidos 5.521.283, 5.532.336 y en los documentos PCT/US96/22308 y PCT/US96/01471.

Por "PP" se entiende el polipéptido peptídico pancreático o variantes de especies del mismo, en cualquier forma fisiológica. Por tanto, el término "PP" incluye tanto el péptido humano de 36 aminoácidos de longitud completa, como se expone en (SEC ID N°: 290), como variaciones de especies de PP, incluyendo, por ejemplo, PP murino, de hámster, de pollo, de bovino, de rata y de perro. En este sentido, "PP" "PP de tipo silvestre" y "PP nativo", es decir PP no modificado, se usan indistintamente.

Por "PYY" se entiende el polipéptido peptídico YY humano o variantes de especies del mismo, en cualquier forma fisiológica. Por tanto, el término "PYY" incluye tanto el péptido humano de 36 aminoácidos de longitud completa como variaciones de especies de PYY, incluyendo, por ejemplo, PYY murino, de hámster, de pollo, de bovino, de rata y de perro. En este sentido, "PYY", "PYY de tipo silvestre" y "PYY nativo", es decir PYY no modificado, se usan indistintamente. En el contexto de la presente invención, todas las modificaciones comentadas con referencia a polipéptidos análogos PYY de la presente invención se basan en la secuencia de 36 aminoácidos del PYY humano nativo.

Por "GLP-1" se entiende el péptido 1 similar a glucagón humano o variantes de especies del mismo, en cualquier forma fisiológica. El término "GLP-1" incluye GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59), GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204) y GLP-1(7-36)amida (SEC ID N°: 61), con referencia al GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59) humano de longitud completa y variaciones de especies de GLP-1, incluyendo, por ejemplo, el PP murino, de hámster, de pollo, de bovino, de rata y de perro. En este sentido, "GLP-1," "GLP-1 de tipo silvestre", y "GLP-1 nativo", es decir GLP-1 no modificado, se usan indistintamente.

Por "GLP-2" se entiende el péptido 2 similar a glucagón humano o variantes de especies del mismo, en cualquier forma fisiológica. Más particularmente, el GLP-2 es un péptido de 33 aminoácidos, cosecretado junto con el GLP-1 a partir de células endocrinas intestinales en intestino delgado y grueso.

Por "OXM" se entiende la oxintomodulina humana o variantes de especies de la misma en cualquier forma fisiológica. Más particularmente, la OXM es un péptido de 37 aminoácidos que contiene la secuencia de glucagón de 29 aminoácidos seguida de una extensión carboxilo terminal de 8 aminoácidos.

Por "exendina" se entiende una hormona peptídica encontrada en la saliva del monstruo de Gila, un lagarto endógeno de Arizona, y en la del Lagarto Moteado Mejicano, así como variantes de especies de la misma. Más particularmente, la exendina-3 está presente en la saliva de *Heloderma horridum*, y la exendina-4 está presente en la saliva de *Heloderma suspectum* (Eng, J., et al., J. Biol. Chem., 265: 20259-62, 1990; Eng., J., et al., J. Biol. Chem., 267: 7402-05 (1992)). Las exendinas tienen cierta similitud de secuencia con diversos miembros de la familia de péptido similar a glucagón, siendo la mayor identidad del 53 % con el GLP-1 (Goke, et al., J. Biol. Chem., 268: 19650-55 (1993)). En este sentido, la "exendina", la "exendina de tipo silvestre" y la "exendina nativa", es decir la exendina no modificada, se usan indistintamente.

Por "urocortina" se entiende una hormona peptídica de urocortina humana o variantes de especies de la misma en cualquier fisiológica. Más particularmente, hay tres urocortinas humanas: Ucn-1, Ucn-2 y Ucn-3. Por ejemplo, la urocortina 1 humana tiene la fórmula: Asp-Asn-Pro-Ser-Leu-Ser-Ile-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Thr-Leu-Leu-Glu-Leu-Ala-Arg-Thr-Gln-Ser-Gln-Arg-Glu-Arg-Ala-Glu-Gln-Asn-Arg-Ile-Ile-Phe-Asp-Ser-Val-NH2 (SEC ID N°: 294). La urocortina derivada de rata es idéntica salvo por 2 sustituciones: Asp2 por Asn2 y Pro4 por Ser4. La Ucn-2 tiene la secuencia Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu Glu Gln Ala Arg Ala Arg Ala Ala Arg Glu Gln Ala Thr Thr Asn Ala Arg Ile Leu Ala Arg Val Gly His Cys (SEC ID N°: 399). La Ucn-3 humana tiene la secuencia Phe Thr Leu Ser Leu Asp Val Pro Thr Asn Ile Met Asn Leu Leu Phe Asn Ile Ala Lys Ala Lys Asn Leu Arg Ala Gln Ala Ala Ala Asn Ala His Leu Met Ala Gln Ile (SEC ID N°: 299). La Ucn-3 está preferentemente en forma de amida. Además, las urocortinas y análogos se describen en la bibliografía, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos 6214797. Las urocortinas Ucn-2 y Ucn-3, que conservan las propiedades de supresión de la ingesta de alimento y las propiedades antihipertensivas/cardioprotectoras/ionotrópicas, encuentran particular uso en los híbridos de la invención. La estrescopina (Ucn-3) y el péptido relacionado con la estrescopina (Ucn 2), denominado por su capacidad para suprimir la activación crónica del eje HPA después de un estímulo estresante tal como régimen/ayuno, son específicos para el receptor de CRF de tipo 2 y no activan el CRF-R1 que media la liberación de ACTH. Los híbridos que comprenden una urocortina, por ejemplo, Ucn-2 o Ucn-3, son particularmente útiles para la vasodilatación y por tanto para usos cardiovasculares como se describe en el presente documento, por ejemplo CHF. Los híbridos de la invención que contienen urocortina encuentran uso particular en el tratamiento o prevención de afecciones asociadas con la estimulación de la liberación de ACTH, hipertensión debido a efectos vasodilatadores, inflamación mediada a través elevación distinta de ACTH, hipertermia, trastorno del apetito, insuficiencia cardíaca congestiva, estrés, ansiedad y soriasis. Dichos compuestos son también útiles para un efecto antiproliferativo, tal como para el tratamiento o prevención de cánceres o crecimiento tumoral. De particular interés son el módulo de la hormona peptídica urocortina combinado con un módulo péptido natriurético, la familia de la amilina y la familia de la exendina, o un módulo de la familia del GLP1 para proporcionar un beneficio cardiovascular potenciado, por ejemplo, tratamiento de CHF, tal como proporcionar un efecto de vasodilatación beneficioso.

Por "neuromedina" se entiende la familia de péptidos de la neuromedina que incluye péptidos U y S de la neuromedina, más particularmente sus secuencias hormonales activas. Por ejemplo, la hormona peptídica de neuromedina U humana activa nativa es la neuromedina-U25: Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn (SEC ID N°: 308), particularmente en forma de amida. La U25 de cerdo tiene la secuencia: FKVDEEFQGPVSVQNRYYFLFRPRN (SEC ID N°: 314), particularmente su forma amida. Otros miembros de la familia de neuromedina U incluyen los siguientes listados como sus designaciones y números de entrada de SWISS-PROT: NEUU\_CANFA (P34962), NEUU\_CAVPO (P34966), NEUU\_CHICK (P34963), NEUU\_HUMAN (P48645), NEUU\_LITCE (P81872), NEUU\_MOUSE (Q9QXK8), NEUU\_PIG (P34964), NEUU\_RABIT (P34965), NEUU\_RANTE (P20056), y NEUU\_RAT (P12760). De particular interés son sus hormonas peptídicas activas procesadas y sus derivados y fragmentos. Incluida en la familia de la neuromedina U se encuentran diversas variantes truncadas o de corte y empalme, por ejemplo, FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN (SEC ID N°: 300). Un ejemplo de la familia de la neuromedina S es la neuromedina S humana con la secuencia ILQRGSGTAAVDFTKKDHTATWGRPFLLFRPRN (SEC ID N°: 315), particularmente su forma amida. Los híbridos de la invención que tienen un módulo de neuromedina tendrán un efecto anorexigénico, y por tanto tendrán un valor beneficioso en el tratamiento de la



obesidad, diabetes, reducción de ingesta de alimento, y otras afecciones y trastornos relacionados como se describe en el presente documento. De particular interés son los módulos de neuromedina combinados con un péptido de la familia de la amilina, una familia del péptido de exendina o un módulo de la familia del péptido de GLP1.

5 Como se usa en el presente documento, un "análogo" se refiere a un péptido cuya secuencia se obtuvo de la de un péptido base de referencia (por ejemplo, PP, PYY, amilina, GLP-1, exendina, etc.), incluyendo inserciones, sustituciones, extensiones y/o deleciones de la secuencia de aminoácidos de referencia, que preferentemente tiene al menos el 50 o el 55 % de identidad de secuencia de aminoácidos con el péptido base, más preferentemente tiene al menos 70 %, 80 %, 90 % o 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con el péptido base. En una  
10 realización, dichos análogos pueden comprender sustituciones de aminoácidos (incluyendo aminoácidos naturales y formas L y D) conservativas y no conservativas.

Un "derivado" se define como una molécula que tiene la secuencia de aminoácidos de un péptido de referencia nativo o análogo, pero que adicionalmente tiene modificación química de uno o más de sus grupos laterales de  
15 aminoácidos, átomos de carbono  $\alpha$ , grupo amino terminal o grupo de ácido carboxílico terminal. Una modificación química incluye, pero sin limitación, añadir fracciones químicas, crear nuevos enlaces y retirar fracciones químicas. Las modificaciones en los grupos laterales de aminoácidos incluyen, sin limitación, acilación de grupos  $\epsilon$ -amino de lisina, N-alquilación de arginina, histidina, o lisina, alquilación de grupos de ácido carboxílico de glutámico o aspártico, y desaminación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del amino terminal incluyen, sin limitación,  
20 las modificaciones des-amino, N-alquilo inferior, N-dialquilo inferior, y alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo) y N-acilo. Las modificaciones del grupo carboxi terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones amida, amida de alquilo inferior, alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo), dialquil amida, y éster de alquilo inferior. Alquilo inferior es alquilo C1-C4. Además, uno o más grupos laterales, o grupos terminales, pueden protegerse mediante grupos protectores conocidos por los  
25 expertos habituales en la química de péptidos. El carbono  $\alpha$  de un aminoácido puede estar mono o dimetilado.

Por "agonista" se refiere a un compuesto que suscita una actividad biológica de un péptido de referencia humano nativo, que preferentemente tiene una fuerza mayor que la del péptido de referencia, o con un orden de magnitud de fuerza de cinco (más o menos) en comparación con el péptido de referencia, más preferentemente un orden de  
30 magnitud de 4, 3, 2 o 1, cuando se evalúa con mediciones conocidas en la técnica, tales como con estudios de unión al receptor/competición. En una realización, el término se refiere a un compuesto que suscita un efecto biológico similar al de un péptido de referencia humano nativo, por ejemplo, un compuesto (1) que tiene actividad en ensayos de ingesta de alimento, vaciado gástrico, secreción pancreática o de pérdida de peso similares a los del péptido de referencia humano nativo, o (2) que se une específicamente en un ensayo de receptor de referencia o en un ensayo  
35 de unión competitiva con el péptido de referencia marcado. Preferentemente, los agonistas se unirán en dichos ensayos con una afinidad mayor de  $1 \mu\text{M}$ , y más preferentemente con una afinidad mayor de 1-5 nM. En otra realización, el término se refiere a un compuesto que suscita un efecto biológico en el tratamiento de la diabetes o de una enfermedad o trastorno relacionado con la diabetes. Dichos agonistas pueden comprender un polipéptido que comprenda un fragmento activo de un péptido de referencia o una molécula química pequeña.

Por "aminoácido" y "resto de aminoácido" se entiende aminoácidos naturales, aminoácidos no naturales y aminoácidos modificados. A menos que se indique lo contrario, cualquier referencia a un aminoácido, generalmente o específicamente por nombre, incluye una referencia a los estereoisómeros tanto D como L si su estructura permite  
45 dichas formas estereoisoméricas. Los aminoácidos naturales incluyen alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), glutamina (Gln), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), Lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val). Los aminoácidos no naturales incluyen, pero sin limitación, homolisina, homo-arginina, ácido acetildicarboxílico, ácido 2-aminoadípico, ácido 3-aminoadípico, beta-alanina, ácido aminopropiónico, ácido 2-aminobutírico, ácido 4-aminobutírico, ácido 6-aminocaproico, ácido 2-aminoheptanoico,  
50 ácido 2-aminoisobutírico, ácido 3-aminoisobutírico, ácido 2-aminopimélico, butilglicina terciaria, ácido 2,4-diaminoisobutírico, desmosina, ácido 2,2'-diaminopimélico, ácido 2,3-diaminopropiónico, N-etilglicina, N-etil asparagina, homoprolina, hidroxilisina, alo-hidroxilisina, 3-hidroxi prolina, 4-hidroxi prolina, isodesmosina, alo-isoleucina, N-metil alanina, N-metil glicina, N-metil isoleucina, N-metil pentil glicina, N-metil valina, naftalanina, norvalina, norleucina, ornitina, pentil glicina, ácido pipercolico y tioprolina. Otros aminoácidos no naturales incluyen  
55 restos de aminoácidos modificados que están químicamente bloqueados, reversible o irreversible, o químicamente modificados en su grupo amino N terminal o en sus grupos laterales secundarios, como por ejemplo, aminoácidos D y L N metilados o restos en los que los grupos funcionales de cadena lateral están químicamente modificados con otro grupo funcional. Por ejemplo, los aminoácidos modificados incluyen sulfóxido de metionina; metionina sulfona; ácido aspártico-(beta-metil éster), un aminoácido modificado de ácido aspártico, N-etilglicina, un aminoácido de glicina modificado; carboxamida alanina, un aminoácido de alanina modificado. Otros restos que pueden  
60 incorporarse se describen en Sandberg *et al.*, J. Med. Chem. 41: 2481-91, 1998.

Como se usa en el presente documento: "5 Apa" significa 5 aminopentanoílo, "12 Ado" significa 12 amino dodecanoílo, "PEG(8)" significa 3,6,-dioxi octanoílo y "PEG(13)" significa 1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimoílo.  
65

Como se indica en el presente documento, en la técnica se conocen hormonas peptídicas componentes nativas, así como sus análogos y derivados. Por referencia, en la Tabla 1 se proporcionan secuencias de diversas hormonas peptídicas componentes nativas.

5

Tabla 1: hormonas peptídicas componentes ejemplares

Sec ID	Descripción	Secuencia
44	Amilina de Rata	KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY
45	h-Amilina	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGAILSSTNVGSNTY
46	h-ADM	YRQSMNMFQGIJISFGCRFGTCTVQKIAHQIYQFTDKDKDNVAP RSKISPQGY
47	s-CT	CSNLSTCVLGLKSQELHKLQTYPRNTGSGTP
48	h-CT	CGNLSTCMLGTYTQDFNKFHFTFPQTAIGVGAP
49	h-CGRP $\alpha$	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNFVPTNVGSKAF
50	H-CGRP $\beta$	ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKS NFVPTNVGSKAF
51	h-AFP-6 (1-47)	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNL SHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
52	h-AFP-6 (8-47)	VGCVLGTCCVQNL SHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
53	AFP-6(1-47) de ratón	PHAQLLRVGCVLGTCQVQNL SHRLWQLVRPAGRRDSAPVDPSSPHSY
54	AFP-6 (8-47) de ratón	VGCVLGTCCVQNL SHRLWQLVRPAGRRDSAPVDPSSPHSY
55	CCK-8-sulfatada	DY(SO <sub>3</sub> )MGW MDF
56	h-Leptina	MHWGTLGFLWLPYLFYVQAVPIQKVQDDTKTIKTIVTRIN DISHTQSVSSKQKVTGLDFIPGLHPILTL SKMDQTLAVYQQILTS MPSRNVIQISNDLENLRDLLHVLA FSKSCHLPWASGLETLDSL G GVLEASGYSTEVVALSRLQGS LQDMLWQLDLSPGC
57	h-PYY	YPIKPEAPGEDASPEELNRY YASLRHYLNLVTRQRY
58	h-PYY (3-36)	IKPEAPGEDASPEELNRY YASLRHYLNLVTRQRY
59	hGLP-1 (1-37)	HDEFERHAEGTFTSDVSSTLEGQA ALEFIAWLVKGRG
60	GLP-1 de rana	HAEGTYTNDVTEYLEEKA AKEFIEWLIK GKPKKIRYS-OH;
188	GLP-1 de rana	HAEGTFTSDVTQQLDEKAA KEFIDWLINGGPSKEIIS-OH
61	h-GLP-1 (7-36)	HAEGTFTSDVSSYLEGQA ALEFIAWLVKGR
62	h-GLP-2	HADGSFSDEMNTILDNL AARFINWLIETKITD
63	GLP-2 de rana	HAEGTFTNDMTNYLEEKA AKEFVGVWLIKGRP-OH
64	OXM	HSQGTFTSDYSKYLD SRRRAQDFVQWLMNTKRNRN NIA
65	Exendina-3	HSDGTFTSDLSKQME EEA VRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
66	Exendina-4	HGEGTFTSDLSKQME EEA VRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
291	Urocortina II (de Ratón)	VILSLDVPIGLLRILLE QARYKAARNQAATNAQILAHV-NH2
292	WP-24 (Urocortina)	WSPGARNQGGGARALL LLLAERFP-OH
293	TV-18 (Urocortina)	TQSQRERAEQNRIIFDSV-NH2
294	Urocortina Humana	DNPSLSIDLTFHLLR TLLELARTQSQRERAEQNRIIFDSV-NH2
295	SE-20 (Urocortina-111/Estrescopina)	SFHYLRSRDASSGEE EEEGKE-OH
296	AI-13 (Urocortina-III/Estrescopina)	AQAAANAHLMAQI-OH
297	DA-21 (Urocortina)	DNPSLSIDLTFHLLR TLLELA-OH
298	TL-26 (Urocortina-III/Estrescopina)	TKFTLSLDVPTNIMN LLLFNIAKAKNL-OH
299	Urocortina III Humana	FTLSLDVPTNIMN LLLFNIAKAKNLRAQAAANAHLMAQI-NH2
300	FN-38(SLM14)	FLFHYSKTQKLGKSN VVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH2
301	Polipéptido Natriurético Auricular alfa (1-28), humano, porcino, bovino	SLRRSSCFGGRMDRIGA QSGGLGCNSFRY-OH
302	Péptido natriurético cerebral de rata; BNP de Rata	c(NSKMAHSSSCFGQKIDRIGAVSRLGCDGLRLF)-OH
303	Péptido Natriurético Cerebral (BNP) (humano)	SPKMYQGS GCFGRKMDRISSSSGLGCKVLR RH-OH
304	Péptido natriurético de tipo C, Porcino; Cnp, Porcino	GLSKGCFGLKLD RIGSMSGLGC-OH

Sec ID	Descripción	Secuencia
305	Neuromedina U-8 (porcina)	YFLFRPRN-NH2
306	Neuromedina U (rata)	YKVNEYQGPVAPSGGFFLFRPRN-NH2
307	Neuromedina U-9	GYFLFRPRN-NH2
308	Neuromedina humana (U25)	FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH2

Generalmente, estos péptidos están amidados en el extremo C cuando se expresan fisiológicamente, pero no necesariamente para los fines de la presente invención. En otras palabras, el extremo C de estos péptidos, así como los polipéptidos de híbridos de la presente invención, pueden tener un grupo OH o NH<sub>2</sub> libre. Estos péptidos también pueden tener otras modificaciones post-traduccionales. Un experto en la técnica apreciará que los polipéptidos híbridos de la presente invención también pueden construirse con un resto de metionina N terminal.

Los módulos peptídicos ejemplares, para su uso en la divulgación, incluyen adicionalmente, módulos peptídicos que pueden extenderse en el extremo N (y sus análogos y fragmentos) incluyendo Apelina, que existe en dos formas, Apelina 36 y 13, ambas activas en el receptor de AJP (LVQPRGSRNGPGPWQGGRRKFRRQRPRLSHGKPMPPF-OH (SEC ID N°: 316) y pERPRLSHGKPMPPF-OH (SEC ID N°: 317)); péptido Liberador de Prolactina, que existe en 2 formas, PRP31 y PRP20, igualmente activo en GPR10 (SRTHRHSMEIRTPDINPAWYASRGIRPVGRF-NH2 (SEC ID N°: 318) y TPDINPAWYASRGIRPVGRF-NH2 (SEC ID N°: 319)); Gastrina, que existe como una gastrina grande y mini gastrina, residendo la mayor parte de la actividad sin embargo en los restos de la pentagastrina (QLGPQGGPHLVADPSKKQGPWLEEEEEAYGWMDF-NH2 (SEC ID N°: 320); pEGPWLEEEEEAYGWMDF-NH2 (SEC ID N°: 321); beta-AWMDF-NH2 (SEC ID N°: 322)); CCK, que existe como CCK33 o CCK8 (central frente a periférica; KAPSGRMSIVKNLQNLDPHSRISDRDYMGMDF-NH2 (SEC ID N°: 323); DYMGWMDF-NH2 (SEC ID N°: 55); Cortistatina, que existe como cortistatina 17 o 29 (QEGAPPQQSARRDRMPCRNFFWKTFTSSCK-OH (SEC ID N°: 324) y DRMPCRNFFWKTFTSSCK-OH (SEC ID N°: 325)); somatostatina, que existe como somatostatina 14 o 28 (SANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKTFTSC-OH (SEC ID N°: 326); AGCKNFFWKTFTSC-OH (SEC ID N°: 327)); GRP para la cual una secuencia C-terminal de 10 aminoácidos posee la mayoría de la actividad (VPLPAGGGTVLTKMYPRGNHWAVGHLM-NH2 (SEC ID N°: 328); GNHWAVGHLM-NH2 (SEC ID N°: 329)); Neuromedina B para la cual una región C-terminal de 10 aminoácidos posee la mayoría de la actividad (LSWDLPEPRSRASKIRVHSRGNLWATGHFM-NH2 (SEC ID N°: 330); GNLWATGHFM-NH2 (SEC ID N°: 331)); Neuromedina S para la cual una región C-terminal de 9 aminoácidos posee la mayoría de la actividad (ILQRGSGTAAVDFTKKDHTATWGRPFLLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 315); PFFLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 332)); Neuromedina U para la cual una región C-terminal de 9 aminoácidos posee la mayoría de la actividad (FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 308); GYFLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 307)); Neurotensina, que existe como una forma larga y corta (KIPYILKRQLYENKPRRPYIL-OH (SEC ID N°: 333); QLYENKPRRPYIL-OH (SEC ID N°: 334); Kiss-1 cuya actividad se basa principalmente en su extremo C (GTSLSPPPESSGSPQQPGLSAPHSRQIPAPQGAVLVQREKDLPNYNWNSFGLRF-NH2 (SEC ID N°: 335); EKDLPNYNWNSFGLRF-NH2 (SEC ID N°: 336)); RF-amida-3, cuyos fragmentos C terminales poseen actividad (SAGATANLPLRSRGNMEVSLVRRVPLPQRF-NH2 (SEC ID N°: 337); VPLPQRF-NH2 (SEC ID N°: 338)); Dinorfina, que existe como dinorfina grande (A) de dinorfina B (rimorfina) (YGGFLRRIRPKLKWQDNQKRYGGFLRRQFKVVT-OH (SEC ID N°: 339) y YGGFLRRQFKVVT-OH (SEC ID N°: 340)); PYY cuyos fragmentos C-terminales son activos en el receptor Y2 (YPIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY-NH2 (SEC ID N°: 57); SLRHYLNLVTRQRY-NH2 (SEC ID N°: 341)); AFP-6 cuya región 7-47 conserva actividad (TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY-NH2 (SEC ID N°: 51); VGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY-NH2 (SEC ID N°: 52)); incluyendo la familia de la amilina que incluye adrenomedulina, calcitonina y CGRP; Oxitocina cuya amida C-terminal generalmente es necesaria para la actividad y puede tolerar extensiones N-terminales.

Los módulos peptídicos ejemplares para su uso en la divulgación incluyen adicionalmente, módulos peptídicos que pueden extenderse en el extremo C que incluyen, Endotelina I, II y III: ETI (CSCSSLMDKECVYFCHLDIIWVNTPEHVVPYGLGSPRS-OH (SEC ID N°: 342); CSCSSLMDKECVYFCHLDIIW-OH (SEC ID N°: 343)), ETII (CSCSSWLDKECVYFCHLDIIWVNTPEQTAPYGLGNPP-OH (SEC ID N°: 344); CSCSSWLDKECVYFCHLDIIW-OH (SEC ID N°: 345)) y ETIII (CTCFYKDKCEVYYCHLDIIWINTPEQTVPYGLSNYRGSFR-NH2 (SEC ID N°: 346); CTCFYKDKCEVYYCHLDIIW-OH (SEC ID N°: 347)); grelina cuya actividad se basa principalmente en sus 10 primeros restos (GSSFLSPEHQRVQQRKESKPPAKLQP-OH (SEC ID N°: 348); GSSFLSPEHQ-OH (SEC ID N°: 349)); glucagones, incluyendo oxintomodulina que es un glucagón extendido en el extremo C con actividad similar a los glucagones (HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRNIA-OH (SEC ID N°: 350); HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT-OH (SEC ID N°: 351)); GLP-1/GLP-2 cuyas actividades se conservan con o sin una amida C terminal; GIP, que circula en 2 formas, GIP1-42 y GIP1-30, ambos completamente activos en el Receptor GIP (YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGGKNDWKHNITQ-OH (SEC ID N°: 352); YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQK-NH2 (SEC ID N°: 353)); neuropéptido W, que existe como NPW23 y NPW30, igualmente activo en GPR7 y 8 (WYKHVAPRYHTVGRAAGLLMGLRRSPYLW-OH (SEC ID N°: 354);

WYKHVSPRYHTVGRAAGLLMGL-OH (SEC ID N°: 355); PACAP que existe en 2 formas, PACAP27 y 38 (HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ RVKNK-NH2 (SEC ID N°: 356); HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL-NH2 (SEC ID N°: 357)); PHI y PHV (HADGVFTSDFS KLLGQLS AKKYLESLMGRVSSNISEDPVPV-OH (SEC ID N°: 358); HADGVFTSDFS KLLGQLS AKKYLESLM-NH2 (SEC ID N°: 359)); GRF, que existe en 2 formas GRF29 y GRF40 (YADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSRQQGESNQERGARARL-NH2 (SEC ID N°: 360); YADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSOH (SEC ID N°: 361)); PTH formas 1-34 y 1-37 que poseen actividad de PTH 1-84 de longitud completa (SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNFVALGAPLAPRDAGSQRPRKKEDNVLVESHEKSLGEADKADV NVLTKAKSQ (SEC ID N°: 362); SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNFVAL-OH (SEC ID N°: 363); SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNF-OH (SEC ID N°: 364)); PTH-RP para la cual 1-36 posee actividad de 1-86 de longitud completa (AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRFFLHHLIAEIHAEIRATSEVSPNSKPSNTKNHPVRFSGSDDEGRYLTQETNKVETY KEQPLKTPGKKGKGP-NH2 (SEC ID N°: 365); AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRFFLHHLIAEIHAEI-OH (SEC ID N°: 366)); gama-MSH para la cual gama-MSH1 más corto y gama-MSH3 más largo tienen actividades similares (YVMGHFRWDRFGRNRSSSSGSSGAGQ-OH (SEC ID N°: 367); YVMGHFRWDRF-NH2 (SEC ID N°: 368)); MSH para la cual la alfa-MSH es una parte activa de la ACTH (SYSMEHFRWGKPVGKRRPVKVYPNGAEDESAEAFLEF-OH (SEC ID N°: 369); SYSMEHFRWGKPV-NH2 (SEC ID N°: 370)); y endorfinas para las cuales la endorfina A, delta y  $\gamma$  son subpéptidos activos de la endorfina  $\beta$  más larga (YGGFMTSEKSQTPLVTLFKNAIKNAYKKGE-OH (SEC ID N°: 371); YGGFMTSEKSQTPLVTLFKNAIKNAY-OH (SEC ID N°: 372); YGGFMTSEKSQTPLVTL-OH (SEC ID N°: 373); YGGFMTSEKSQTPLVTOH (SEC ID N°: 374)).

Por ejemplo, las melanocortinas son péptidos del gen de la proopiomelanocortina, incluyendo la hormona estimulante de melanocitos alfa (alfa-MSH) y la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y se conocen cinco receptores de melanocortina se conocen, MC1-5R. MC4R parece desempeñar una función en el equilibrio energético y obesidad. Véase, por ejemplo, Anderson *et al.*, Expert Opin. Ther. Patents 11: 1583-1592 (2001), Speake *et al.*, Expert Opin. Ther. Patents 12: 1631-1638 (2002), Bednarek *et al.*, Expert Opin. Ther. Patents 14: 327-336 (2004).

En la técnica se conocen análogos de las hormonas peptídicas componentes anteriores, pero generalmente incluyen modificaciones tales como sustituciones, deleciones e inserciones en la secuencia de aminoácidos de dichas hormonas peptídicas componentes, y cualquiera de sus combinaciones. Las sustituciones, inserciones y deleciones pueden estar el extremo N o C terminal, o pueden estar en partes internas de la hormona peptídica componente. En un aspecto preferido, los análogos de las hormonas peptídicas componentes de la invención incluyen una o más modificaciones de un resto de aminoácido "no esencial". En el contexto de la invención, un resto de aminoácido "no esencial" es un resto que puede alterarse, es decir, deleccionarse o sustituirse, en la secuencia de aminoácidos humana nativa del fragmento, por ejemplo, el fragmento de la hormona peptídica componente, sin anular o reducir sustancialmente la actividad agonista del receptor de la hormona peptídica componente del análogo resultante.

Las sustituciones preferidas incluyen sustituciones de aminoácidos conservativas. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es una en la que el resto de aminoácido se reemplaza por un resto de aminoácido que tiene una cadena lateral similar, o características fisicoquímicas (por ejemplo, rasgos electroestáticos, enlaces de hidrógeno, isostéricos, hidrófobos) similares. En la técnica se conocen familias de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, metionina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptófano), cadenas laterales  $\beta$  ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

La presente invención también se refiere a derivados de las hormonas peptídicas componentes. Dichos derivados incluyen hormonas peptídicas componentes y análogos de las mismas conjugados con una o más moléculas poliméricas solubles en agua, tales como polietilenglicol ("PEG") o cadenas de ácidos grasos de diversas longitudes (por ejemplo, estearilo, palmitoilo, octanoilo, etc.), o por la adición de poliaminoácidos, tales como poli-his, poli-arg, poli-lys y poli-ala. Las modificaciones en las hormonas peptídicas componentes o sus análogos también pueden incluir sustituyentes de moléculas pequeñas tales como alquilo cortos y alquilo restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo), y grupos aromáticos. Las moléculas poliméricas solubles en agua tendrán preferentemente un peso molecular que varía de aproximadamente 500 a aproximadamente 20.000 Daltons.

Dichas conjugaciones poliméricas y modificaciones de sustituyentes de moléculas pequeñas pueden producirse singularmente en el extremo N o C o en las cadenas laterales de los restos de aminoácidos dentro de la secuencia de los polipéptidos híbridos. Como alternativa, puede haber sitios de derivatización múltiples a lo largo del polipéptido híbrido. La sustitución de uno o más aminoácidos con lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína puede proporcionar sitios de derivatización adicionales. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nos

5.824.784 y 5.824.778. Preferentemente, los polipéptidos híbridos pueden conjugarse con una, dos o tres moléculas poliméricas.

5 Las moléculas poliméricas solubles en agua están preferentemente ligadas a un grupo amino, carboxilo o tiol y pueden ligarse mediante un extremo N o C, o en las cadenas laterales de lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína. Como alternativa, las moléculas poliméricas solubles en agua pueden ligarse con grupos diamina y dicarboxílicos. En una realización preferida, los polipéptidos híbridos de la invención están conjugados con una, dos o tres moléculas de PEG a través de un grupo épsilon amino en un aminoácido de lisina.

10 Los derivados de la invención también incluyen hormonas peptídicas componentes o análogos con alteraciones químicas en uno o más restos de aminoácidos. Dichas alteraciones químicas incluyen amidación, glucosilación, acilación, sulfatación, fosforilación, acetilación y ciclación. Las alteraciones químicas pueden producirse singularmente en los extremos N o C o en las cadenas laterales de restos de aminoácidos dentro de la secuencia de los polipéptidos PPF híbridos. En una realización, el extremo C de estos péptidos puede tener un grupo -OH o -NH<sub>2</sub> libre. En otra realización, el extremo N terminal puede protegerse con un grupo isobutiloxicarbonilo, un grupo isopropiloxicarbonilo, un grupo *n*-butiloxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, un grupo isocaproilo (isocap), un grupo octanilo, un grupo octil glicina (G(Oct)), o un grupo ácido 8-aminooctánico. En una realización preferida, la ciclación puede ser a través de la formación de puentes disulfuro. Como alternativa, a lo largo del polipéptido híbrido puede haber sitios múltiples de alteración química.

20 La familia de la amilina

25 Como se indica en el presente documento, las hormonas peptídicas componentes útiles en la presente invención, como se define en las reivindicaciones, incluyen hormonas peptídicas de la familia de la amilina, que incluyen amilina, adrenomedulina ("ADM"), calcitonina ("CT"), péptido relacionado con el gen de la calcitonina ("CGRP"), intermedina (también conocida como "AFP-6") y péptidos relacionados. En la técnica se conocen hormonas peptídicas de la familia de la amilina nativas, al igual que sus análogos y derivados peptídicos funcionales. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo debe reconocerse que, junto con la presente invención, puede usarse cualquiera de los péptidos conocidos de la familia de la amilina que presente actividad hormonal conocida en la técnica.

30 Cualquier análogo o derivado de amilina conocido en la técnica puede usarse junto con la presente invención. Los análogos y derivados de amilina tienen al menos una actividad hormonal de la amilina nativa. En determinadas realizaciones, los análogos de la amilina son agonistas de un receptor con el que la amilina nativa es capaz de unirse específicamente. Los análogos y derivados preferidos de la amilina incluyen los descritos en el documento US 35 2003/0026812 A1.

Los análogos ejemplares de amilina incluyen:

SEC ID:	
67	<sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina (pramlintida)
68	des- <sup>1</sup> Lys-h-amilina
69	<sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28,29</sup> Pro-h-amilina
70	<sup>18</sup> Arg, <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina
71	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>18</sup> Arg, <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina
72	<sup>18</sup> Arg, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
73	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>18</sup> Arg, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
74	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
75	<sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28,29</sup> Pro-h-amilina
76	<sup>28</sup> Pro-h-amilina, 2,7-Ciclo-[ <sup>2</sup> Asp, <sup>1</sup> Lys]-h-amilina
77	<sup>2-37</sup> h-amilina
78	<sup>1</sup> Ala-h-amilina
79	<sup>2</sup> Ala-h-amilina
80	<sup>2,7</sup> Ala-h-amilina
81	<sup>1</sup> Ser-h-amilina
82	<sup>29</sup> Pro-h-amilina
83	<sup>25,28</sup> Pro-h-amilina
84	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina
85	<sup>23</sup> Leu, <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28,29</sup> Pro-h-amilina
86	<sup>23</sup> Leu, <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28</sup> Pro-h-amilina
87	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>23</sup> Leu, <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28</sup> Pro-h-amilina
88	<sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28</sup> Pro-h-amilina
89	<sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
90	<sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina

SEC ID:	
91	<sup>17</sup> Ile, <sup>23</sup> Leu, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
92	<sup>17</sup> Ile, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
93	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>17</sup> Ile, <sup>23</sup> Leu, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina
94	<sup>17</sup> Ile, <sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu-h-amilina
95	<sup>17</sup> Ile, <sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>26</sup> Val, <sup>29</sup> Pro-h-amilina
96	<sup>17</sup> Ile, <sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28,29</sup> Pro-h-amilina,
97	<sup>13</sup> Thr, <sup>21</sup> His, <sup>23</sup> Leu, <sup>26</sup> Ala, <sup>29</sup> Leu, <sup>31</sup> Pro, <sup>31</sup> Asp-h-amilina
98	<sup>13</sup> Thr, <sup>21</sup> His, <sup>23</sup> Leu, <sup>26</sup> Ala, <sup>29</sup> Pro, <sup>31</sup> Asp-h-amilina
99	des- <sup>1</sup> Lys, <sup>13</sup> Thr, <sup>21</sup> His, <sup>23</sup> Leu, <sup>26</sup> Ala, <sup>28</sup> Pro, <sup>31</sup> Asp-h-amilina
100	<sup>13</sup> Thr, <sup>18</sup> Arg, <sup>21</sup> His, <sup>23</sup> Leu, <sup>26</sup> Ala, <sup>29</sup> Pro, <sup>31</sup> Asp-h-amilina
101	<sup>13</sup> Thr, <sup>18</sup> Arg, <sup>21</sup> His, <sup>23</sup> Leu, <sup>28,29</sup> Pro, <sup>31</sup> Asp-h-amilina
102	<sup>13</sup> Thr, <sup>18</sup> Arg, <sup>21</sup> His, <sup>23</sup> Leu, <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Ala, <sup>28,29</sup> Pro, <sup>31</sup> Asp-h-amilina

Como se sabe en la técnica, dichos análogos de amilina está preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente invención, pueden estar opcionalmente en forma de ácido salvo que se especifique de otra manera.

- 5 Cualquier análogo o derivado de la ADM conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados de la ADM tienen al menos una actividad hormonal de la ADM nativa. En determinadas realizaciones, los análogos de la ADM son agonistas de un receptor con el que la ADM nativa puede unirse específicamente.
- 10 Cualquier análogo o derivado de la CT conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados de la CT tienen al menos una actividad hormonal de la CT nativa. En determinadas realizaciones, los análogos de la CT son agonistas de un receptor con el que la CT nativa puede unirse específicamente. Los análogos y derivados preferidos de la CT incluyen los descritos en las Patentes de Estados Unidos Nos 4.652.627; 4.606.856; 4.604.238; 4.597.900; 4.537.716; 4.497.731; 4.495.097; 4.444.981; 4.414.149; 4.401.593; y 4.397.780.
- 15

Los análogos ejemplares de la CT incluyen

SEC ID:	
103	<sup>8</sup> Gly-CT
104	<sup>22</sup> Leu-CT
105	<sup>2</sup> Gly, <sup>3</sup> Ser, <sup>8</sup> Gly, <sup>22</sup> des-Tyr-CT
106	<sup>14</sup> Glu-sCT,
107	<sup>18</sup> Arg-sCT,
108	<sup>11,18</sup> Arg-sCT,
109	<sup>14</sup> Glu, <sup>18</sup> Arg-sCT,
110	<sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCT

- 20 Como se sabe en la técnica, dichos análogos de CT están preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente invención, pueden estar opcionalmente en forma ácida salvo que se especifique de otra manera.

- Cualquier análogo o derivado del CGRP conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados del CGRP tienen al menos una actividad hormonal del CGRP nativo. En determinadas realizaciones, los análogos del CGRP son agonistas de un receptor con el que el CGRP nativo puede unirse específicamente. Los análogos y derivados del CGRP incluyen los descritos en las Patentes de Estados Unidos Nos 4.697.002 y 4.687.839.
- 25

Los análogos ejemplares del CGRP incluyen:

30

SEC ID:	
111	<sup>36</sup> D-Ser-CGRP
112	<sup>36</sup> -Thr-CGRP
113	<sup>36</sup> D-Asp-CGRP
114	<sup>36</sup> D-Asn-CGRP
115	<sup>36</sup> Ser-CGRP
116	<sup>36</sup> Hse-CGRP
117	<sup>30</sup> Asp-CGRP
118	<sup>36</sup> Thr-CGRP
119	<sup>36</sup> Asn-CGRP

Cualquier análogo o derivado de la AFP-6 conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados de la AFP-6 tienen al menos una actividad hormonal de la AFP-6 nativa. En determinadas realizaciones, los análogos de la AFP-6 son agonistas de un receptor con el que la AFP-6 nativa puede unirse específicamente. Los análogos y derivados de la AFP-6 incluyen los descritos en el documento WO 2003/022304.

5

Los análogos ejemplares de la AFP-6 incluyen:

SEC ID:	
120	TQAQLLRVGCNLTSCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
121	TQAQLLRVGCDTATCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
122	TQAQLLRVGMVLGTMQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
123	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY
124	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQESAPVEPSSPHSY
125	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQL----RQDSAPVDPSSPHSY
126	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQL----DSAPVDPSSPHSY
127	RVGCVLGTTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
128	VGCVLGTTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPHSY
129	VGCVLGTTCQVQNLSHRLWQL----RQDSAPVEPSSHSY
130	GCVLGTTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
131	GCNTATCQVQNLSHRLWQL----RQDSAPVDPSSPHSY
132	GCNTATCQVQNLSHRLWQL----RQDSAPVEPSSPHSY
133	GCSNLTSCQVQNLSHRLWQL----RQDSAPVEPSSPHSY
134	GCGNLTSCQVQNLSHRLWQL----RQDSAPVEPSSPHSY
135	GCVLGTTCQVQNLSHRLWQL----RQESAPVEPSSPHSY
136	CVLGTTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
137	QVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
138	VQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
139	VQNLSHRL----QLMGPAGRQDSAPVDPSSPHSY
140	GTMQVQNLSHRLWQL---RQDSAPVEPSSPHSY

10 Como se sabe en la técnica, dichos análogos de AFP-6 están preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente divulgación, pueden estar opcionalmente en forma ácida salvo que se especifique de otra manera.

La familia de la CCK

15 En la técnica se conocen las CCK, incluyendo la hCCK y variantes de especie y diversos análogos de las mismas. Generalmente, la CCK tiene una secuencia de 33 aminoácidos identificada por primera vez en seres humanos, e incluye un fragmento C terminal *in vivo* de 8 aminoácidos ("CCK-8") que se ha demostrado supuestamente en cerdo, rata, pollo, chinchilla, perro y ser humano. Otras variantes de especie incluyen una secuencia de 39 aminoácidos encontrada en cerdo, perro y cobaya y una de 58 aminoácidos encontrada en gato, perro y ser humano, y una  
 20 secuencia de 47 aminoácidos homóloga tanto a la CCK como a la gastrina. La secuencia octapeptídica (CCK-8) sulfatada con tirosina en el extremo C, está relativamente conservada entre las especies y pueden ser la secuencia mínima para la actividad biológica en la periferia de roedores. Por tanto, el término CCK-33 se referirá generalmente a la CCK(1-33) de ser humano, mientras que la CCK-8 (CCK(26-33); SEC ID N°: 55) se referirá al octapéptido C terminal genéricamente tanto en la forma sulfatada como en la no sulfatada salvo que se especifique de otra  
 25 manera. Adicionalmente, la pentagastrina o CCK-5 se referirá al péptido C terminal CCK(29-33) (SEC ID N°: 209) y la CCK-4 se referirá al tetrapéptido C terminal CCK(30-33) (SEC ID N°: 208).

30 Se ha indicado que un subtipo del receptor de tipo A (CCK<sub>A</sub>) es selectivo para el octapéptido sulfatado. El subtipo del receptor de tipo B (CCK<sub>B</sub>) se ha identificado por todo el cerebro y estómago, y supuestamente no requiere la sulfatación o los ocho aminoácidos.

35 En la técnica se conocen diversos métodos de exploración *in vivo* e *in vitro* para análogos de la CCK. Como ejemplos se incluyen ensayos *in vivo* que implican la contracción de la vesícula biliar de perro o cobaya después de inyección intravenosa rápida del compuesto a ensayar con respecto a la actividad similar a la CCK, y en ensayos *in vitro* usando tiras de vesícula biliar de conejo. Véase Walsh, "Gastrointestinal Hormones", en Physiology of the Gastrointestinal Tract (3ª ed. 1994; Raven Press, Nueva York).

Determinadas CCK y análogos de CCK ejemplares con actividad CCK incluyen:

SEC ID:	
141	DY(SO <sub>3</sub> H)MGWMDF
142	DYMGWMDF

SEC ID:	
143	MGWMDF
144	GWMDf
145	WMDF
146	KDY(SO <sub>3</sub> H)MGWMDF
147	KDYMGMDF
148	KMGWMDF
149	KGWMDF
150	KWMDF

Como se sabe en la técnica, dichos péptidos de CCK están preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente divulgación, pueden estar opcionalmente en forma ácida salvo que se especifique de otra manera.

## 5 La Familia de la Leptina

Las hormonas peptídicas componentes útiles en la presente divulgación también incluyen hormonas peptídicas de la familia de la leptina. En la técnica se conocen hormonas peptídicas de la familia de la leptina nativa, al igual que análogos y derivados peptídicos funcionales. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo, debe reconocerse que cualquier péptido de la familia de la amilina que presente actividad hormonal conocida en la técnica puede usarse junto con la presente descripción.

Cualquier análogo o derivado de la leptina conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados de la leptina tienen al menos una actividad hormonal de la leptina nativa. En determinadas realizaciones, los análogos de la leptina son agonistas de un receptor con el que la leptina nativa puede unirse específicamente. Los análogos y derivados de la leptina preferidos incluyen los descritos, por ejemplo, en los documentos WO 2004/039832, WO 98/55139, WO 98/12224, y WO 97/02004.

En una realización los péptidos de leptina incluyen MVPIQK, VQDDTK, TLIK, TIVTR, INDISHTQSVSSK, VTGLDFIPGLHPILTLSK, NVIQISNDLENLR, DLLHVLAFSK, SCHLPWASGLETLDLSLGGVLEASGYSTEWALSR y LQGSLLQDMLWQLDLSPGC como se desvela en el documento WO97046585.

En una realización, un péptido de leptina puede tener una secuencia de aminoácidos Xaa-Ser-Cys-Xaa1-Leu-Pro-Xaa2-Xaa3-Xaa, en la que Xaa puede tener cero restos de longitud, o puede ser un tramo contiguo de restos peptídicos derivados de las secuencias de la leptina humana o de ratón de longitud completa, un tramo de entre 1 y 7 en cualquiera de los extremos C o N, o en el que el péptido de leptina tiene una longitud total de 15 aminoácidos o menor. En otra realización, Xaa1, Xaa2 o Xaa3 puede ser cualquier sustitución de aminoácidos. En otra realización adicional, Xaa1, Xaa2 o Xaa3 puede ser cualquier sustitución de aminoácidos conservativa de los restos respectivos en la leptina humana o de ratón de longitud completa. En una realización adicional, Xaa1 puede seleccionarse del grupo que consiste en His o Ser, y Xaa2 o Xaa3 es cualquier sustitución de aminoácido. En otra realización, Xaa2 puede seleccionarse del grupo que consiste en Trp o Gln, y Xaa1 o Xaa3 es cualquier sustitución de aminoácido. Incluso en otra realización, Xaa3 puede seleccionarse del grupo que consiste en Ala o Thr y Xaa1 o Xaa2 es cualquier sustitución de aminoácido. En otra realización, Xaa1 se selecciona del grupo que consiste en His o Ser, Xaa2 se selecciona del grupo que consiste en Trp o Gln y Xaa3 se selecciona del grupo que consiste en Ala o Thr. Véase el documento WO04039832.

En una realización, el péptido de leptina comprende 116-122 restos de aminoácido C terminal de la leptina humana o de ratón de longitud completa nativa (correspondiente a las posiciones 95-101 de sus formas maduras) e isoformas D, fragmentos, derivados, análogos y homólogos de las mismas, que poseen la capacidad de modular la homeostasis de la masa corporal en ensayos con animales después de administración i.p. (intraperitoneal). Los péptidos D sustituidos de ratón específicos de secuencia SCCLPQT incluyen [D-Ser-1]-, [D-Cys-2]-, [D-Ser-3]-, [D-Leu-4]-, [D-Pro-5]-, [D-Gln-6]-, [D-Thr-7]-SCCLPQT y todo de [D] SCCLPQT. Los péptidos D sustituidos humanos específicos de SCHLPWA incluyen [D-Ser-1]-, [D-Cys-2]-, [D-His-3]-, [D-Leu-4]-, [D-Pro-5]-, [D-Trp-6]-, [D-Ala-7]-SCHLPWA y todo [D]-SCHLPWA. Además, los péptidos SCHLPWA y SCCLPQT pueden contener aminoácidos D sustituidos en cualquiera de dos, tres, cuatro, cinco o seis posiciones. También se desvelan péptidos relacionados con leptina que comprenden 21-35, 31-45, 41-55 y 51-65 aminoácidos N-terminal de la leptina nativa y fragmentos derivados, análogos y homólogos de la misma. Los péptidos de leptina adicionales de la invención comprenden las secuencias de aminoácidos 61-75, 71-85, 81-95, 91-105, 106-120, 116-130, 126-140, 136-150, 146-160, y 156-167 de la leptina de longitud completa humana y/o de ratón. Véase el documento WO04039832.

En una realización la leptina tiene la secuencia Ser Cys His Leu Pro Xaa Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Xaa Gly Ser Leu Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys en la que: Xaa en la posición 6 es Trp o Gln; Xaa en la posición 36 es Gln o Glu; Xaa en la posición 40 es Gln o Glu; Xaa en la posición 42 es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina; Xaa en la posición 44 es Trp o Gln; y Xaa en la posición 45 es Gln o Glu. En otra realización son leptina de lo anterior cuando



Xaa en la posición 6 es Trp; Xaa en la posición 36 es Gln; Xaa en la posición 40 es Gln; Xaa en la posición 42 es Met; Xaa en la posición 44 es Trp; y Xaa en la posición 45 es Gln. Véase la patente de Estados Unidos 5521283.

En una realización las leptinas son secuencias nativas, que incluyen

- 5 Leptina murina: Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr
- 10 Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys, en la que: Xaa en la posición 28 es Gln o falta;
- Leptina porcina: Val Pro Ile Trp Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp
- 15 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Ser Cys Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Ser Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys;
- Leptina bovina: Val Pro Ile Cys Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Leu Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ala Ser Lys Ser Cys Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Val Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys en la que Xaa en la posición 28 es Gln o falta;
- 20 Leptina humana: Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys en la que: Xaa en la posición 27 es Thr o Ala; y Xaa en la posición 28 es Gln o falta;
- 25 Leptina de Rhesus: Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Ser Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val Leu Thr Leu Ser Gln Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Ile Asn Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Leu Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Asp Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys; y
- 30 Leptina de rata: Val Pro Ile His Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala Arg Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala His Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys Ser Leu Pro Gln Thr Arg Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro Glu Cys.

En otra realización los péptidos de leptina tienen la secuencia:

- 45 Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Xaa Asp Ile Ser His Xaa Xaa Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Xaa Pro Ser Arg Xaa Val Ile Gln Ile Xaa Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Xaa Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys, en la que: Xaa en la posición 22 es Asn, Asp o Glu; Xaa en la posición 27 es Thr o Ala; Xaa en la posición 28 es Gln, Glu, o falta; Xaa en la posición 54 es Met o Ala; Xaa en la posición 68 es Met o Leu; Xaa en la posición 72 Asn, Asp o Glu; Xaa en la posición 77 es Ser o Ala; Xaa en la posición 118 es Gly o Leu; teniendo dicha proteína al menos una sustitución seleccionada del grupo que consiste en: His en la posición 97 se reemplaza con Ser o Pro; Trp en la posición 100 se reemplaza con Gln, Ala o Leu; Ala en la posición 101 se reemplaza con Thr o Val; Ser en la posición 102 se reemplaza con Arg; Gly en la posición 103 se reemplaza con Ala; Glu en la posición 105 se reemplaza con Gln; Thr en la posición 106 se reemplaza con Lys o Ser; Leu en la posición 107 se reemplaza con Pro; Asp en la posición 108 se reemplaza con Glu; o Gly en la posición 111 se reemplaza con Asp.
- 50
- 55
- 60 En otra realización la leptina tiene la secuencia: Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Xaa Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Xaa Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys, en la que: Xaa en la posición 27 es Thr o Ala; Xaa en la posición 77 es Ser o Ala; Xaa en la posición 118 es Gly o Leu; teniendo dicha proteína al menos una
- 65

## ES 2 537 062 T3

5 sustitución, teniendo preferentemente de una a cinco sustituciones y, más preferentemente, de una a dos sustituciones seleccionadas del grupo que consiste en: His en la posición 97 se reemplaza con Ser; Trp en la posición 100 se reemplaza con Gln; Ala en la posición 101 se reemplaza con Thr; Glu en la posición 105 se reemplaza con Gln; Thr en la posición 106 se reemplaza con Lys; Leu en la posición 107 se reemplaza con Pro; Asp en la posición 108 se reemplaza con Glu; o Gly en la posición 111 se reemplaza con Asp. En realizaciones adicionales de la secuencia anterior Xaa en la posición 27 es Thr; Xaa en la posición 77 es Ser; Xaa en la posición 118 es Gly; y los restos de aminoácidos las posiciones 97, 100, 101, 105, 106, 107, 108 y 111 son como se indica en la siguiente tabla:

	97	100	101	105	106	107	108	111
humana nativa	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly

ES 2 537 062 T3

	97	100	101	105	106	107	108	111
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Thr	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Trp	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Gln	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Thr	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp

	97	100	101	105	106	107	108	111
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Glu	Gly
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Lys	Leu	Glu	Asp
	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Pro	Glu	Asp
	His	Gln	Thr	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Glu	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Lys	Leu	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Gly
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Pro	Asp	Asp
	His	Gln	Ala	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp

5 En una realización la leptina tiene la secuencia: Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Asp Xaa Thr Leu Ala Val Tyr Xaa Xaa Ile Leu Thr Ser Xaa Pro Ser Arg Xaa Val Ile Xaa Ile Ser Xaa Asp Leu Glu Xaa Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Xaa Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Xaa Gly Ser Leu Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys, en la que: Xaa en la posición 13 es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina; Xaa en la posición 15 es Gln o Glu; Xaa en la posición 21 es Gln o Glu; Xaa en la posición 22 es Gln o Glu; Xaa en la posición 27 es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina; Xaa en la posición 31 es Asn, Asp o Gln; Xaa en la posición 34 es Gln o Glu; Xaa en la posición 37 es Asn, Asp o Gln; Xaa en la posición 41 es Asn, Asp o Gln; Xaa en la posición 59 es Trp o Gln; Xaa en la posición 89 es Gln o Glu; Xaa en la posición 93 es Gln o Glu; Xaa en la posición 95 es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina; Xaa en la posición 97 es Trp o Gln; y Xaa en la posición 98 es Gln o Glu. E otra realización la leptina de la fórmula anterior que tiene Xaa en la posición 13 es Met; Xaa en la posición 15 es Gln; Xaa en la posición 21 es Gln; Xaa en la posición 22 es Gln; Xaa en la posición 27 es Met; Xaa en la posición 31 es Asn; Xaa en la posición 34 es Gln; Xaa en la posición 37 es Asn; Xaa en la posición 41 es Asn; Xaa en la posición 59 es Trp; Xaa en la posición 89 es Gln; Xaa en la posición 93 es Gln; Xaa en la posición 95 es Met; Xaa en la posición 97 es Trp; y Xaa en la posición 98 es Gln. Véase la patente de Estados Unidos 5532336.

20 Los análogos de leptina ejemplares incluyen aquellos en los que el aminoácido en la posición 43 se sustituye con Asp o Glu; la posición 48 se sustituye por Ala; la posición 49 se sustituye con Glu, o falta; la posición 75 se sustituye con Ala; la posición 89 se sustituye con Leu; la posición 93 se sustituye con Asp o Glu; la posición 98 se sustituye con Ala; la posición 117 se sustituye con Ser, la posición 139 se sustituye con Leu, la posición 167 se sustituye con Ser, y cualquier combinación de las mismas.

25 Determinadas lectinas ejemplares y análogos de leptina con actividad leptina incluyen:

SEC ID:	
151	<sup>43</sup> Asp-leptina
152	<sup>43</sup> Glu-leptina
153	<sup>48</sup> Ala-leptina
154	<sup>49</sup> Glu-leptina
155	<sup>49</sup> Des-AA-leptina
156	<sup>75</sup> Ala-leptina
157	<sup>89</sup> Leu-leptina
158	<sup>93</sup> Asp-leptina

SEC ID:	
159	<sup>93</sup> Glu-leptina
160	<sup>98</sup> Ala-leptina
161	<sup>117</sup> Ser-leptina
162	<sup>139</sup> Leu-leptina
163	<sup>167</sup> Ser-leptina
164	<sup>43</sup> Asp, <sup>49</sup> Glu-leptina
165	<sup>43</sup> Asp, <sup>75</sup> Ala-leptina
166	<sup>89</sup> Leu, <sup>117</sup> Ser-leptina
167	<sup>93</sup> Glu, <sup>167</sup> Ser-leptina

### Familia PPF

- 5 Las hormonas peptídicas componente útiles en la presente divulgación también incluyen hormonas peptídicas PPF, que incluyen PP y PYY. En la técnica se conocen hormonas peptídicas PPF nativas, así como análogos y derivados peptídicos funcionales. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo, debe reconocerse que cualquier péptido de la familia de la amilina que presente actividad hormonal conocida en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación.
- 10 Cualquier análogo o derivado de PPF conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados de PPF tienen al menos una actividad hormonal de un polipéptido PPF nativo. En determinadas realizaciones, los análogos de PPF son agonistas de un receptor con el que el polipéptido PPF nativo puede unirse específicamente. Los análogos y derivados de PPF preferidos incluyen los descritos en los documentos WO 03/026591 y WO 03/057235.
- 15 En una realización, los análogos y derivados de PPF preferidos que presentan al menos una actividad hormonal de PPF generalmente comprenden al menos dos motivos PYY incluyendo un motivo de poliprolina y un motivo de cola C terminal. Dichos análogos se describen generalmente en la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 60/543.406 presentada el 11 de febrero de 2004, publicada como US 2006/013547A1 el 22 de junio de 2006.
- 20 En el documento PCT/US2005/004351, titulado "Pancreatic Polypeptide Family Motifs and Polypeptides Comprising the Same", publicado como WO2005/077094 el 25 de agosto del 2005, se desvelan otros análogos de PPF preferidos.
- 25 En el documento PCT/US2005/045471, titulado "Pancreatic Polypeptide Family Motifs, Polypeptides and Methods Comprising the Same", publicado como WO2006/066024 el 22 de junio de 2006, se desvelan otros análogos de PPF preferidos.
- 30 Como antecedente, la investigación ha sugerido que las diferencias en las afinidades de unión del receptor Y se correlacionan con las diferencias estructurales secundarias y terciarias. Véase, por ejemplo Keire *et al.*, *Biochemistry* 2000, 39, 9935-9942. El PYY porcino nativo se ha caracterizado como que incluye dos segmentos helicoidales C terminales desde los restos 17 a 22 y 25 a 33 separados por una doblez en los restos 23, 24 y 25, un giro centrado alrededor de los restos 12-14, y el extremo N plegado cerca de los restos 30 y 31. Adicionalmente, el PYY porcino de longitud completa se ha caracterizado como que incluye el pliegue PP, estabilizado por interacciones hidrófobas entre los restos en los extremos N y C. Véase *id.*
- 35 Un "motivo PYY" es generalmente un componente estructural, primario, secundario o terciario de un polipéptido de la familia del PP nativo que es crítico para la actividad biológica, es decir, la actividad biológica está sustancialmente disminuida en ausencia o alteración del motivo. Los motivos de PYY preferidos incluyen el motivo de tipo II de poliprolina N terminal de un polipéptido de la familia de PP nativo, el motivo de giro  $\beta$  de tipo II del polipéptido de la familia de PP nativo, el motivo  $\alpha$  helicoidal del extremo C terminal del polipéptido de la familia de PP nativo, y el motivo de cola C terminal del polipéptido de la familia de PP nativo. Más particularmente, en la región de poliprolina N terminal, los aminoácidos correspondientes a los restos 5 y 8 de un polipéptido de la familia de PP nativo se conservan generalmente como una prolina. El motivo de giro  $\beta$  de tipo II generalmente incluye los aminoácidos correspondientes a los restos 12-14 del polipéptido de la familia de PP nativo. El motivo  $\alpha$  helicoidal puede extenderse generalmente desde los aminoácidos correspondientes al resto aproximadamente 14 de un polipéptido de la familia de PP nativo a cualquier punto hasta e incluyendo el extremo C terminal, siempre que el motivo  $\alpha$  helicoidal incluya un número suficiente de restos de aminoácidos de tal manera que se forme un giro  $\alpha$  helicoidal en solución. El motivo  $\alpha$  helicoidal también puede incluir sustituciones, inserciones y deleciones de aminoácidos en la
- 40 secuencia de la familia de PP nativo, siempre que el giro  $\alpha$  helicoidal se forme en solución. El motivo de cola C terminal generalmente incluye los aminoácidos correspondientes a aproximadamente los últimos 10 restos de un polipéptido de la familia de PP nativo, más preferentemente los últimos 7, 6 o 5 restos de un polipéptido de la familia de PP nativo, y más preferentemente los restos de aminoácidos 32-35.
- 50

Los análogos preferidos de PYY incluyen aquellos con deleciones, inserciones y sustituciones internas en zonas de la molécula PYY que no corresponden al motivo de poliprolina y/o al motivo de cola C terminal. Por ejemplo, se contemplan deleciones internas en las posiciones 4, 6, 7, 9 o 10.

5 En otra realización de particular interés, la hormona componente es un polipéptido de PPF que contiene al menos dos motivos PPF incluyendo al menos el motivo PPF de poliprolina N terminal y el motivo PPF de cola C terminal. Como se usa en el presente documento, "motivo" se refiere a una secuencia de aminoácidos que es característica de una función bioquímica específica o define un dominio independientemente plegado. Los motivos PPF adicionales pueden corresponder a un m motivo de cualquiera de los polipéptidos de la familia PP, incluyendo PP, PYY y NPY, por ejemplo el motivo de la región de giro  $\beta$  de tipo II de PYY, o el motivo  $\alpha$  helicoidal en el extremo C terminal de PYY.

15 En otra realización más, el módulo del componente de la familia PPF es un polipéptido quimérico PPF que comprende un fragmento de un polipéptido PP, PYY o NPY ligado por enlace covalente a al menos un fragmento adicional de un segundo polipéptido PP, PYY o NPY, en el que cada fragmento de PP, PYY o NPY incluye un motivo PPF. Como alternativa, el PPF quimérico puede comprender un fragmento de un polipéptido de la familia PP ligado a uno, dos, tres o cuatro segmentos polipeptídicos, en el que al menos uno de los segmentos polipeptídicos ligados es un fragmento de un segundo polipéptido de la familia PP. En determinadas realizaciones, los polipéptidos PPF no incluyen un fragmento PP N-terminal con un fragmento NPY C-terminal. El módulo del componente del polipéptido quimérico PPF presentará al menos una identidad de secuencia del 50 % con un PYY(3-36) nativo sobre la longitud completa del PYY(3-36). En algunas realizaciones, dicho polipéptido quimérico PPF puede presentar al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencia con un PYY(3-36) nativo sobre la longitud completa de PYY(3-36). Dichos polipéptidos quiméricos PPF pueden presentar al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencia con un PP nativo. En otra realización adicional, dicho polipéptido quimérico PPF puede presentar al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencia con un NPY. En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos PPF pueden incluir al menos el motivo PPF de poliprolina N terminal y el motivo PPF de cola C terminal. Estos polipéptidos quimera PPF así como otros análogos de PYY y PP, se describen en el documento US 2006/013547A1 publicado el 22 de junio del 2006. En una realización, cualquiera de los péptidos de la familia PPF, si no están contenidos como un componente híbrido, pueden proporcionarse como un segundo agente, por ejemplo, como un segundo agente antiobesidad, con un híbrido como se describe en el presente documento.

35 De nuevo, el polipéptido quimérico PPF generalmente conservará, al menos en parte, una actividad biológica del PP, PYY o NPY humano nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido quimérico PPF presenta actividad biológica en el tratamiento y prevención de afecciones y trastornos metabólicos.

40 Los fragmentos polipeptídicos de las quimeras PPF pueden ligarse por enlace covalente entre sí de cualquier manera conocida en la técnica, incluyendo pero sin limitación, enlaces amida directo o grupos enlazadores químicos. Los grupos enlazadores químicos pueden incluir peptidomiméticos que induzcan o establezcan la conformación polipeptídica. Los polipéptidos quiméricos PPF incluyen quimeras de PYY-PP, PYY-NPY, PP-PYY, PP-NPY, NPY-PP o de NPY-PYY.

45 La quimera de PPF puede tener una longitud de al menos 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 o 34 aminoácidos. En algunas realizaciones, los polipéptidos análogos de PYY incluyen solamente restos de L aminoácidos naturales y/o restos de L aminoácidos naturales modificados. En algunas realizaciones, los polipéptidos análogos de PYY no incluyen restos de aminoácidos no naturales.

50 En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF incluyen: hPP(1-7)-pNPY, hPP(1-17)-pNPY, hPP(19-23)-pNPY, hPP(19-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, hPP(19-23)-His<sup>34</sup>pNPY, rPP(19-23)-pNPY, rPP(19-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, rPP(19-23)-His<sup>34</sup>pNPY, hPP(1-17)-His<sup>34</sup>pNPY, NPY(1-7)-hPP, pNPY(1-7, 19-23)-hPP, cPP(1-7)-pNPY(19-23)-hPP, cPP(1-7)-NPY(19-23)-His<sup>34</sup>hPP, hPP(1-17)-His<sup>34</sup>pNPY, hPP(19-23)-pNPY, hPP(19-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, pNPY(1-7)-hPP, pNPY(19-23)-hPP, pNPY(19-23)-Gln<sup>34</sup>hPP, pNPY(19-23)-His<sup>34</sup>hPP, pNPY(19-23)-Phe<sup>6</sup>Gln<sup>34</sup>hPP, pNPY(19-23)-Phe<sup>6</sup>His<sup>34</sup>hPP, pNPY(1-7,19-23)-hPP, pNPY(1-7,19-23)-Gln<sup>34</sup>hPP, cPP(20-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, cPP(21-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, cPP(22-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, cPP(1-7)-Pro<sup>34</sup>pNPY, cPP(20-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, cPP(1-7,20-23)-Pro<sup>34</sup>pNPY, cPP(1-7)-pNPY(19-23)-hPP, cPP(1-7)-pNPY(19-23)-His<sup>34</sup>hPP, cPP(1-7)-gPP(19-23)-hPP, cPP(1-7)-pNPY(19-23)-Ala<sup>31</sup>Aib<sup>32</sup>Gln<sup>34</sup>-hPP, cPP(1-7)-pNPY(19-23)-Ala<sup>31</sup>Aib<sup>32</sup>-pNPY, hPP(1-17)-Ala<sup>31</sup>Aib<sup>32</sup>-pNPY, pNPY(1-7)-Ala<sup>31</sup>Aib<sup>32</sup>Gln<sup>34</sup>-hPP, o pNPY(1-7, 19-23)-Ala<sup>31</sup>Aib<sup>32</sup>Gln<sup>34</sup>-hPP.

60 En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF pueden comprender fragmentos de polipéptidos análogos de la familia PP. Por ejemplo, los polipéptidos quiméricos de PPF pueden comprender polipéptidos análogos de PPF descritos en el presente documento, así como polipéptidos análogos de PP y polipéptidos análogos de NPY.

65

- Un polipéptido análogo de PYY para su uso en los híbridos de la divulgación o como un segundo agente son aquellos que tienen en uno de los ensayos descritos en el presente documento (incluyendo ensayos de ingesta de alimento, vaciado gástrico, secreción pancreática, composición corporal o de reducción de peso) tienen una fuerza que es igual o mayor que la fuerza de NPY, PYY o PYY(3-36) en ese mismo ensayo. En algunas realizaciones, los polipéptidos análogos de PYY pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades metabólicas, tales como, por ejemplo, obesidad, síndrome de insulinoresistencia (Síndrome X) o diabetes mellitus. En algunas realizaciones, los polipéptidos análogos de PYY pueden presentar facilidad de fabricación, estabilidad y/o facilidad de formulación mejoradas, en comparación con PP, NPY, PYY o PYY(3-36).
- En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF conservan un porcentaje de al menos aproximadamente 25 %, o de aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 98 % o aproximadamente 99 % de actividad biológica de PYY humano nativo con respecto a la reducción de la disponibilidad de nutrientes, la reducción de ingesta de alimento, el efecto de aumento de peso corporal y/o el tratamiento y prevención de trastornos y afecciones metabólicas. En otra realización, los polipéptidos quiméricos de PPF presentan actividad agonista de PYY mejorada. En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF presentan al menos aproximadamente 110 %, aproximadamente 125 %, aproximadamente 130 %, aproximadamente 140 %, aproximadamente 150 %, aproximadamente 200 %, o más de la actividad biológica del PYY humano nativo con respecto a la reducción de la disponibilidad de nutrientes, la reducción de ingesta de alimento, el efecto de aumento de peso corporal y/o el tratamiento y prevención de trastornos y afecciones metabólicas.
- Más particularmente, en un aspecto, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento de PP ligado a un fragmento de PYY. En una realización, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento N terminal de PP o un polipéptido análogo de PP ligado en su extremo C terminal a un fragmento C terminal de PYY o un polipéptido análogo de PYY. En otra realización, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento N terminal de PYY, PYY(3-36) o un polipéptido análogo de PYY ligado en su extremo C terminal a un fragmento C terminal de PP o un polipéptido análogo de PP.
- En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento de PYY ligado a un fragmento de NPY. En una realización, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento N terminal de PYY, PYY(3-36), o un polipéptido análogo de PYY ligado en su extremo C terminal a un fragmento C terminal de NPY o un polipéptido análogo de NPY. En otra realización, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento N terminal de NPY o un polipéptido análogo de NPY ligado en su extremo C terminal a un fragmento C terminal de PYY o un polipéptido análogo de PYY.
- En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento de PP ligado a un fragmento de NPY. En una realización, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento N terminal de PP o un polipéptido análogo de PP ligado en su extremo C terminal a un fragmento C terminal de NPY o un polipéptido análogo de NPY. En otra realización, los polipéptidos quiméricos de PPF comprenden un fragmento N terminal de NPY o un polipéptido análogo de NPY ligado en su extremo C terminal a un fragmento C terminal de PP o un polipéptido análogo de PP.
- En algunas realizaciones, un fragmento de PP, un polipéptido análogo de PP, PYY, PYY(3-36), o un polipéptido análogo de PYY, NPY, o un polipéptido análogo de NPY es un fragmento que comprende cualquiera de los 4 a 20 restos de aminoácidos del PP, polipéptido análogo de PP, PYY(3-36), polipéptido análogo de PYY, NPY o polipéptido análogo de NPY. En algunas realizaciones, la longitud del fragmento se selecciona para obtener un polipéptido quimérico final de PPF de al menos 34 aminoácidos de longitud.
- Los polipéptidos quiméricos de PPF también pueden comprender modificaciones adicionales que incluyen, sin limitación, sustitución, delección e inserción en la secuencia de aminoácidos de dichos polipéptidos quiméricos de PPF y cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF incluyen una o más modificaciones de un resto de aminoácido "no esencial". Un resto de aminoácido "no esencial" es un resto que puede alterarse, es decir, deleccionarse o sustituirse, en la secuencia de aminoácidos humana nativa sin anular o reducir sustancialmente la actividad de interés.
- Los derivados de los polipéptidos quiméricos de PPF también son útiles. Dichos derivados incluyen polipéptidos quiméricos de PPF conjugados con una o más moléculas poliméricas solubles en agua, tales como polietilenglicol ("PEG") o cadenas de ácidos grasos de diversas longitudes (por ejemplo, estearilo, palmitoilo, octanoilo, oleoilo, etc.) o por la adición de poliaminoácidos tales como poli-his, poli-arg, poli-lys y poli-ala. Las modificaciones en los polipéptidos quiméricos de PPF también pueden incluir sustituyentes de pequeña molécula tales como alquilos pequeños y alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo) y grupos aromáticos. En algunas realizaciones, las moléculas poliméricas solubles en agua tendrán un peso molecular que varía de aproximadamente 500 a aproximadamente 20.000 Daltons.

Dichas conjugaciones poliméricas y modificaciones de sustituyentes de pequeña molécula pueden producirse singularmente en el extremo N o C o en las cadenas laterales de los restos de aminoácidos, que no estén implicadas en la formación del híbrido, en la secuencia de los polipéptidos quiméricos de PPF. Como alternativa, puede haber sitios de derivatización múltiples a lo largo del polipéptido quimérico de PPF. La sustitución de uno o más aminoácidos con lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína puede proporcionar sitios de derivatización adicionales. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nos 5.824.784 y 5.824.778. En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF pueden conjugarse con una, dos o tres moléculas poliméricas.

En algunas realizaciones, las moléculas poliméricas solubles en agua están ligadas a un grupo amino, carboxilo o tiol, y pueden ligarse mediante el extremo N o C, o en las cadenas laterales de lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína. Como alternativa, las moléculas poliméricas solubles en agua pueden ligarse con grupos diamina y dicarboxílico. En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF se conjugan con una, dos o tres moléculas de PEG a través de un grupo épsilon amino en un aminoácido de lisina.

Los polipéptidos quiméricos de PPF también incluyen polipéptidos quiméricos de PPF con alteraciones químicas en uno o más restos de aminoácidos. Dichas alteraciones químicas incluyen amidación, glucosilación, acilación, sulfatación, fosforilación, acetilación y ciclado. Las alteraciones químicas pueden producirse singularmente en el extremo N o C o en las cadenas laterales de los restos de aminoácido dentro de la secuencia de los polipéptidos quiméricos de PPF. En una realización, el extremo C de estos péptidos puede tener un grupo OH o NH<sub>2</sub> libre. En otra realización, el extremo N terminal puede protegerse con un grupo isobutiloxicarbonilo, un grupo isopropiloxicarbonilo, un grupo *n*-butiloxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, un grupo isocaproilo (isocap), un grupo octanilo, un grupo octil glicina (G(Oct)), o un grupo ácido 8-aminooctánico. En algunas realizaciones, el ciclado puede ser a través de la formación de puentes disulfuro. Como alternativa, puede haber sitios de alteración química múltiples a lo largo del polipéptido análogo de PYY.

En algunas realizaciones, los polipéptidos quiméricos de PPF incluyen aquellos que tienen una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nos 238-347 del documento US2006/013547A1.

Los polipéptidos quiméricos de PPF ejemplares incluyen polipéptidos de la Fórmula (VI):

Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Xaa<sub>3</sub> Xaa<sub>4</sub> Pro Glu Xaa<sub>7</sub> Pro Xaa<sub>9</sub> Glu  
 Asp Xaa<sub>12</sub> Xaa<sub>13</sub> Xaa<sub>14</sub> Glu Xaa<sub>16</sub>Xaa<sub>17</sub> Xaa<sub>18</sub> Xaa<sub>19</sub> Tyr  
 Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub> Xaa<sub>23</sub> Leu Xaa<sub>25</sub> Xaa<sub>26</sub> Tyr Xaa<sub>28</sub> Asn Xaa<sub>30</sub>  
 Xaa<sub>31</sub> Thr Arg Gln Xaa<sub>35</sub> Xaa<sub>36</sub>

en la que:

Xaa<sub>1</sub> es Tyr o falta;  
 Xaa<sub>2</sub> es Ile, Pro, o falta;  
 Xaa<sub>3</sub> es Ile, Lys modificada con BH, Lys, Val, o Pro;  
 Xaa<sub>4</sub> es Lys, Lys modificada con BH, Ala, Ser, o Arg;  
 Xaa<sub>7</sub> es Ala, Gly, o His;  
 Xaa<sub>9</sub> es Gly o Ala;  
 Xaa<sub>12</sub> es Ala o Pro;  
 Xaa<sub>13</sub> es Ser o Pro;  
 Xaa<sub>14</sub> es Pro, Ala, o Ser;  
 Xaa<sub>16</sub> es Glu o Asp;  
 Xaa<sub>17</sub> es Leu o Ile;  
 Xaa<sub>18</sub> es Asn o Ala;  
 Xaa<sub>19</sub> es Arg, Lys, Lys modificada con BH, Gln, o N(Me)Ala;  
 Xaa<sub>21</sub> es Tyr, Ala, Phe, Lys o Lys modificada con BH;  
 Xaa<sub>22</sub> es Ala o Ser;  
 Xaa<sub>23</sub> es Ser, Ala, o Asp;  
 Xaa<sub>25</sub> es Arg, Lys o Lys modificada con BH;  
 Xaa<sub>26</sub> es His, Ala, o Arg;  
 Xaa<sub>28</sub> es Leu o Ile;  
 Xaa<sub>30</sub> es Leu o Met;  
 Xaa<sub>31</sub> es Val, Ile, o Leu;  
 Xaa<sub>35</sub> es Lys, Lys modificada con BH, o Arg; y  
 Xaa<sub>36</sub> es Tyr, Trp, o Phe.

En una realización el polipéptido PPF de Fórmula VI puede ser un polipéptido PPF nativo, PYY(2-36), Val3hPYY(3-36), Lys25hPYY(3-36), Lys25Ile28hPYY(3-36), Lys25Ile31hPYY(3-36), Lys25Leu31hPYY(3-36), Lys25Phe36hPYY(3-36), Ile28hPYY(3-36), Ile31hPYY(3-36), Leu31hPYY(3-36), Phe36hPYY(3-36), Leu31Phe36hPYY(3-36) o Pro13Ala14hPYY.



Como reconocerá un experto en la técnica, los polipéptidos de Fórmula VI pueden estar en forma ácida libre o pueden estar amidados en el extremo C.

5 En algunas realizaciones, el polipéptido PPF puede comprender un fragmento N terminal que consta esencialmente de los 17 primeros restos de aminoácidos del PYY humano nativo (Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr) ligado a un fragmento C terminal que consta esencialmente de los restos de aminoácidos 18-36 del NPY humano nativo (Tyr Pro Ser Lys Pro Asp Asn Pro Gly Glu Asp Ala Pro Ala Glu Asp Met Ala Arg Tyr Tyr Ser Ala Leu Arg His Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln Arg Tyr), en el que uno o más restos de aminoácidos en el extremo N del fragmento PYY puede deletarse o faltar y en el que en cada una de los fragmentos de PYY y NPY puede realizarse una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, un fragmento N terminal que consta esencialmente de los 17 primeros aminoácidos del polipéptido PPF puede presentar al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencia con los 17 primeros aminoácidos de un PYY nativo. En algunas realizaciones, un fragmento C terminal del polipéptido PPF que consta esencialmente de los restos de aminoácidos 18-36 puede presentar al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencias con los aminoácidos 18-36 de un NPY nativo. En algunas realizaciones, los aminoácidos en el fragmento N terminal de PYY (por ejemplo, prolinas en la posición 5 y 8, glutamatos en las posiciones 6, 10 y 15, o aspartato en la posición 11), y/o los aminoácidos en el fragmento C terminal de NPY (por ejemplo, tirosinas en las posiciones 20 y 27, leucina en la posición 24, asparagina en la posición 29, treonina en la posición 32, arginina en la posición 33 o glutamina en la posición 34) no están sustituidos. En algunas realizaciones, los polipéptidos PPF incluyen aquellos que tienen una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nos 266, 267, 274, 282, 320 y 436 de la 480 del documento US2006/013547A1. En algunas realizaciones, los polipéptidos PPF comprenden adicionalmente una protección N terminal. Los ejemplos de estos polipéptidos incluyen las SEC ID Nos: 282, 320, 437, 441, 444, 445-447, 452, 454-459, 461-464, 466, 468-470 y 472-480 del documento US2006/013547A1.

Otros polipéptidos PPF incluyen polipéptidos de la Fórmula (VII):

30 Xaa<sub>1</sub> Xaa<sub>2</sub> Pro Xaa<sub>4</sub> Pro Xaa<sub>6</sub> His Pro Xaa<sub>9</sub> Xaa<sub>10</sub>  
Xaa<sub>11</sub> Xaa<sub>12</sub> Xaa<sub>13</sub> Xaa<sub>14</sub> Xaa<sub>15</sub> Xaa<sub>16</sub> Xaa<sub>17</sub> Ala Xaa<sub>19</sub> Tyr  
Xaa<sub>21</sub> Xaa<sub>22</sub> Xaa<sub>23</sub> Leu Xaa<sub>25</sub> Xaa<sub>26</sub> Xaa<sub>27</sub> Xaa<sub>28</sub> Xaa<sub>29</sub> Xaa<sub>30</sub>  
Xaa<sub>31</sub> Thr Arg Gln Arg Tyr

35 en la que:

Xaa<sub>1</sub> es Tyr o falta;  
Xaa<sub>2</sub> es Ile, Pro, o falta;  
Xaa<sub>4</sub> es Lys, Lys modificada con BH, Ala, Ser, o Arg;  
40 Xaa<sub>6</sub> es Glu, Gln, Ala, Asn, Asp, o Val;  
Xaa<sub>9</sub> es Gly o Ala;  
Xaa<sub>10</sub> es Glu, Ala, Asp, Asn, Gln, Gly, Pro, o Aib;  
Xaa<sub>11</sub> es Glu, Ala, Asp, Asn, Gln, Gly, Pro, o Aib;  
Xaa<sub>12</sub> es Ala o Pro;  
45 Xaa<sub>13</sub> es Ser o Pro;  
Xaa<sub>14</sub> es Pro, Ala, o Ser;  
Xaa<sub>15</sub> es Glu, Ala, Asp, Asn, Gln, Gly, Pro, o Aib;  
Xaa<sub>16</sub> es Glu o Asp;  
Xaa<sub>17</sub> es Leu o Ile;  
50 Xaa<sub>19</sub> es Arg, Lys, Lys modificada con BH, Gln, o N(Me)Ala;  
Xaa<sub>21</sub> es Tyr, Ala, Phe, Lys, o Lys modificada con BH;  
Xaa<sub>22</sub> es Ala o Ser;  
Xaa<sub>23</sub> es Ser, Ala, o Asp;  
Xaa<sub>25</sub> es Arg, Lys o Lys modificada con BH;  
55 Xaa<sub>26</sub> es His, Ala, o Arg;  
Xaa<sub>27</sub> es Tyr, o Phe;  
Xaa<sub>28</sub> es Leu o Ile;  
Xaa<sub>29</sub> es Asn, o Gln;  
Xaa<sub>30</sub> es Leu o Met; y  
60 Xaa<sub>31</sub> es Val, Ile, o Leu.

Como reconocerá un experto en la técnica los polipéptidos de Fórmula VII pueden estar en forma de ácido libre o pueden estar amidados en el extremo C.

65 En algunas realizaciones, el polipéptido PPF puede comprender un fragmento N terminal que consta esencialmente de los primeros 17 restos de aminoácidos del PYY nativo humano (SEC ID N°: 2 de US2006/013547A1) ligado a un

fragmento C terminal que consta esencialmente de los aminoácidos 18-36 del NPY nativo humano (SEC ID N°: 4 del documento US 2006/013547A1), en el que uno o más restos de aminoácidos en el extremo N y el fragmento PYY puede deleccionarse o faltar, y en el que en cada uno de los fragmentos PYY y NPY pueden realizarse uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, un fragmento N terminal que consiste esencialmente en los primeros 17 aminoácidos del polipéptido PPF puede presentar al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencia con los primeros 17 aminoácidos de un PYY nativo. En algunas realizaciones, un fragmento C terminal del polipéptido PPF que consiste esencialmente en los restos de aminoácidos 18-36 puede presentar al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 92 %, al menos el 94 % o al menos el 97 % de identidad de secuencia con los 18-36 aminoácidos de un NPY nativo. En algunas realizaciones, los aminoácidos del fragmento N terminal de PYY (por ejemplo, prolina en las posiciones 3, 5 y 8 o histidina en la 7) y/o los aminoácidos del fragmento C terminal de NPY (por ejemplo alanina en la posición 18, tirosinas en las posiciones 20 y 36, leucina en la posición 24, treonina en la posición 32, arginina en la posición 33, glutamina en la posición 34 o arginina en la posición 35) no están sustituidos. En algunas realizaciones, los polipéptidos PPF incluyen los que tienen una secuencia de aminoácidos de una quimera PYY- NPY tales como las SEC ID Nos 266, 437, 438, 439, 442, 462, 469, 470, 471 y 472 del documento US 2006/013547A1 o un compuesto con la secuencia de aminoácidos Ile, Lys, Pro, Glu, His, Pro, Gly, Glu, Asp, Ala, Ser, Pro, Glu, Glu, Leu, Ala, Arg, Tyr, Tyr, Ala, Ser, Leu, Arg, Ala, Tyr, Ile, Asn, Leu, Ile, Thr, Arg, Gln, Arg, Tyr-NH<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, los polipéptidos PPF comprenden adicionalmente una protección N terminal. Los ejemplos de estos polipéptidos PPF incluyen las SEC ID Nos: 437, 462, 469, 470 y 472 del documento US 2006/013547A1. Por ejemplo la secuencia 438 del documento US2006/013547A1 es Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Ala Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln Arg Tyr. En una realización, un híbrido de la presente divulgación incluye como un componente la secuencia 438 del documento US2006/013547A1, particularmente en híbridos útiles para tratar la obesidad, reducir el peso, reducir o redistribuir la grasa y reducir la ingesta calórica. Dicho híbrido también puede contener un componente amilinomimético o un componente de leptina o ambas cosas.

Los polipéptidos PPF y quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente o como un componente de un híbrido de la divulgación, encuentran uso en métodos que incluyen, la alteración de la composición corporal de un sujeto, que comprende administrar al sujeto el compuesto (polipéptidos PPF o solo quimera PPF, como un segundo agente, o como un componente de un híbrido de la invención) en el que el compuesto altera la proporción de masa grasa con respecto a masa magra, alterando de este modo la composición corporal. El polipéptido PPF puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la quimera PYY-NPY denominada 5705 y de las siguientes secuencias del documento US2006/013547A1: SEC ID Nos: 266, 267, 274, 282, 320, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466; 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479 y 480. En una realización la masa grasa corporal se reduce y la masa magra corporal se mantiene o aumenta. En una realización la masa grasa corporal y la masa magra corporal se miden como porcentaje de masa grasa corporal y porcentaje de masa magra corporal, respectivamente. En una realización adicional el peso corporal se reduce. En otra realización el peso corporal se mantiene o aumenta. Los compuestos pueden administrarse por vía periférica. El polipéptido PPF o la quimera PPF o el híbrido que contiene PPF pueden usarse en un método que adicionalmente comprende administrar al sujeto al menos otro agente seleccionado del grupo que consiste en una amilina, un agonista de amilina o un agonista de un análogo de amilina, calcitonina de salmón, una colecistoquinina (CCK) o un agonista de CCK, una leptina (proteína OB) o un agonista de leptina, una exendina o un agonista de un análogo de exendina, un GLP-1, un agonista de GLP-1 o un agonista de un análogo de GLP-1, una CCK o un agonista de CCK, calcitonina, un agonista de calcitonina, un antagonista del receptor CB1 canabinoideo de molécula pequeña, rimonabant, un inhibidor de la 11 beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa-1, sibutramina y fentermina. En una realización el sujeto tiene sobrepeso o es obeso. En otra realización adicional los polipéptidos PPF y la quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente o como un componente de un híbrido de la invención, encuentran uso en métodos que incluyen un método para disminuir preferentemente los niveles de triglicéridos en plasma en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad del compuesto eficaz para disminuir los niveles de triglicéridos en plasma, donde los niveles de colesterol disminuyen a un menor grado. En una realización adicional los niveles de triglicéridos disminuyen y los niveles de colesterol no disminuyen. En una realización adicional los niveles de triglicéridos disminuyen y los niveles de colesterol LDL no disminuyen. En una realización adicional los niveles de triglicéridos disminuyen y los niveles de colesterol LDL disminuyen a un menor grado. En una realización adicional los niveles de amilasa también disminuyen. En otra realización adicional los polipéptidos PPF y las quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente o como un componente de un híbrido de la invención, encuentran uso en métodos que incluyen un método para reducir en un sujeto la grasa corporal o el aumento de grasa corporal, manteniendo al mismo tiempo o aumentando la masa corporal magra, que comprende administrar al sujeto una cantidad del compuesto que sea eficaz para reducir la grasa corporal o el aumento de grasa corporal manteniendo al mismo tiempo o aumentando la masa magra corporal. En otra realización, los polipéptidos PPF y las quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente o como un componente de un híbrido de la divulgación, encuentran uso en métodos que incluyen un método para reducir en un sujeto la grasa corporal visceral, que comprende administrar al sujeto una cantidad del compuesto que sea eficaz para reducir la grasa corporal visceral y conservar o aumentar la masa corporal magra. En otra realización los polipéptidos PPF y las quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente

o como un componente de un híbrido de la divulgación, encuentran uso en métodos que incluyen un método para alterar la distribución de grasa en el sujeto. En un aspecto, la alteración da como resultado un metabolismo aumentado de grasa visceral o ectópica, o ambas, en el sujeto. En otra realización los polipéptidos PPF y las quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente o como un componente de un híbrido de la invención, encuentran uso en métodos que incluyen un método para aumentar la  $\beta$  oxidación de ácidos grasos conservado al mismo tiempo o aumentando la masa corporal magra en un sujeto que comprende administrar al sujeto de una cantidad del compuesto que sea eficaz para aumentar la  $\beta$  oxidación de ácidos grasos conservando al mismo tiempo o aumentando la masa corporal magra. En otra realización los polipéptidos PPF y las quimeras PPF, cuando se usan en solitario o como un segundo agente o como un componente de un híbrido de la divulgación, encuentran uso en métodos que incluyen un método de tratamiento de esteatohepatitis no alcohólica o lipodistrofia en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad de un compuesto eficaz para tratar la esteatohepatitis no alcohólica o lipodistrofia. Los híbridos de particular interés en los usos anteriores pueden contener una quimera PPF como se describe en el presente documento en combinación con un componente de la familia de la leptina o de la familia de la amilina, tal como un híbrido de amilina-sCT-amilina, o ambas cosas. Un híbrido de quimera PPF/leptina o un híbrido de quimera PPF/amilina-sCT-amilina proporcionarán un efecto superior en comparación con cualquiera de los compuestos en solitario. En otras realizaciones adicionales un híbrido de quimera-PPF/leptina se administra con un amilinomimético de tal manera que una quimera de amilina-sCT-amilina o un híbrido de quimera PPF/amilina-sCT-amilina se administran con una leptina.

Cuando las quimeras polipeptídicas PPF mencionadas en el presente documento, no son un módulo componente de un híbrido, pueden administrarse en solitario o como un segundo agente, preferentemente en combinación con un híbrido de la invención. Estas pueden proporcionarse con o sin un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable, bien en una sola dosis o en dosis múltiples. Estos compuestos farmacéuticos pueden formularse con transportadores o diluyentes farmacéuticamente aceptable así como con cualquier otro adyuvante y excipiente conocido de acuerdo con técnicas convencionales tales como las descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences de E. W. Martin. Véase también Wang, Y. J. y Hanson, M. A. "Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers", Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2S (1988), que se incorporan por referencia. Los polipéptidos PPF pueden proporcionarse en forma de dosificación unitaria. Por ejemplo, las cantidades terapéuticamente eficaces del polipéptido PPF para influir en la composición corporal variará con muchos factores que incluyen la edad y el peso del paciente, la condición física del paciente, su uso en combinación con otros tratamientos, el objetivo final que se desea obtener, tal como la pérdida de sobrepeso y/o el mantenimiento o aumento de masa corporal magra, así como otros factores. Sin embargo, las dosis típicas (cuando no es un componente de un híbrido) pueden contener desde un límite inferior de aproximadamente 0,05  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 0,1  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 1  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 5  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 10  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 75  $\mu\text{g}$  o aproximadamente 100  $\mu\text{g}$ , hasta un límite superior de aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 100  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 500  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 1 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg o aproximadamente 150 mg del compuesto farmacéutico al día. También se contemplan otros intervalos de dosificación, tales como de 0,1  $\mu\text{g}$  a 1 mg del compuesto por dosis, o de aproximadamente 0,001  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  por dosis. En algunas realizaciones, la quimera polipeptídica PPF se administra por vía periférica a una dosis de aproximadamente 0,5  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 5 mg por día en dosis sencillas o divididas o como una liberación continua controlada, o de aproximadamente 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  por dosis, o de aproximadamente 0,05  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . En algunas realizaciones, la quimera polipeptídica PPF se administra a una dosis por debajo de aproximadamente 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . En estos intervalos las dosificaciones variarán con la fuerza de cada análogo o derivado, por supuesto, y puede determinarla fácilmente un experto en la técnica. Las dosis diarias pueden administrarse en dosis unitarias distintas, proporcionadas de manera continuada durante un periodo de 24 horas o en cualquier parte de las 24 horas. El número de dosis diarias puede ser de 1 a aproximadamente 4 al día, aunque puede haber más. La administración continuada puede ser en forma de una infusión continua. Otras dosis y tasas de infusión ejemplares contempladas incluyen de 0,005 nmol/kg a aproximadamente 20 nmol/kg por dosis distinta o de aproximadamente 0,01/pmol/kg/min a aproximadamente 10 pmol/kg/min en una infusión continua. Estas dosis e infusiones pueden administrarse mediante cualquier método periférico convencional conocido o desarrollado en un futuro, por ejemplo, por administración intravenosa (i.v.), intradérmica, intramuscular, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retrobulbar, intrapulmonar (por ejemplo liberación con plazo); administración subcutánea (s.c.), oral, sublingual, nasal, anal, vaginal o transdérmica o por implante quirúrgico en un sitio particular. La dosis/administración total ejemplar de la composición farmacéutica proporcionada por vía i.v. puede ser de aproximadamente 1  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 8 mg al día, mientras que la dosis/administración total de la composición farmacéutica proporcionada por vía s.c. puede ser de aproximadamente 6  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 16 mg al día.

#### Incretinas y miméticos de incretina

Las hormonas peptídicas componentes útiles en la presente invención también incluyen hormonas peptídicas GLP-1. Las hormonas peptídicas GLP-1 nativas, incluyendo GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59), GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204), y GLP-1(7-36)amida (SEC ID N°: 61), son conocidas en la técnica, así como los análogos y derivados peptídicos funcionales. Como se usa en el presente documento, GLP-1 se refiere a todas las formas nativas de hormonas

peptídicas del GLP-1. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo, debe reconocerse que cualquiera de los péptidos GLP-1 conocidos que presenten actividad hormonal conocida en la técnica pueden usarse junto con la presente divulgación.

5 Cualquier análogo o derivado peptídico GLP-1 conocido en la técnica puede usarse junto con la presente descripción. En una realización, los análogos y derivados peptídicos de GLP-1 tienen al menos una actividad hormonal de un péptido GLP-1 nativo. En determinadas realizaciones, los análogos peptídicos de GLP-1 son agonistas de un receptor con el que un péptido GLP-1 nativo puede unirse específicamente. Los análogos y derivados peptídicos de GLP-1 preferidos incluyen los descritos, por ejemplo, en el documento WO 91/11457.

10

Los análogos de GLP-1 conocidos en la técnica incluyen:

SEC ID:	
168	<sup>9</sup> Gln-GLP-1(7-37)
169	D- <sup>9</sup> Gln-GLP-1(7-37)
170	<sup>16</sup> Thr- <sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37)
171	<sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37)
172	<sup>8</sup> Gly-GLP-1 (7-36)
173	<sup>9</sup> Gln-GLP-1 (7-37)
174	D- <sup>9</sup> Gln-GLP-1 (7-37)
175	acetil- <sup>9</sup> Lys-GLP-1(7-37)
176	<sup>9</sup> Thr-GLP-1(7-37)
177	D- <sup>9</sup> Thr-GLP-1 (7-37)
178	<sup>9</sup> Asn-GLP-1 (7-37)
179	D- <sup>9</sup> Asn-GLP-1 (7-37)
180	<sup>22</sup> Ser- <sup>23</sup> Arg- <sup>24</sup> Ala- <sup>26</sup> Gln-GLP-1(7-37)
181	<sup>16</sup> Thr- <sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37)
182	<sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37)
183	<sup>23</sup> Arg-GLP-1(7-37)
184	<sup>24</sup> Arg-GLP-1(7-37)

15 Como se sabe en la técnica, dichos análogos de GLP-1 pueden estar preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente invención, pueden estar opcionalmente en forma ácida a menos que se especifique otra cosa.

20 Otros análogos y derivados de GLP-1 se desvelan en la Patente de Estados Unidos N° 5.545.618. Un grupo preferido de análogos y derivados de GLP-1 incluyen aquellos los en la Patente de Estados Unidos N° 6.747.006. En la presente invención también se contempla el uso de una molécula descrita en la Patente de Estados Unidos N° 5.188.666. Otros grupos de moléculas para su uso en la presente divulgación incluyen componentes descritos en la Patente de Estados Unidos N° 5.512.549. En el documento WO 91/11457 se desvela otro grupo preferido de compuestos GLP-1 para su uso en la presente divulgación.

25 Las hormonas peptídicas componentes útiles en la presente divulgación también incluyen hormonas peptídicas GLP-2. En la técnica se conocen hormonas peptídicas de GLP-2 nativas, por ejemplo GLP-2 de rata y sus homólogos incluyendo GLP-2 de buey, GLP-2 porcina, GLP-2 de degú, GLP-2 bovina, GLP-2 de cobaya, GLP-2 de hámster, GLP-2 de ser humano, GLP-2 de trucha arco iris y GLP-2 de pollo, así como análogos y derivados peptídicos funcionales. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo debe reconocerse que cualquiera de los péptidos GLP-2 conocidos que presenten actividad hormonal conocida en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación.

30 Cualquier análogo o derivado peptídico GLP-2 conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados peptídicos GLP-2 tienen al menos una actividad hormonal de un péptido GLP-2 nativo. En determinadas realizaciones, los análogos del péptido GLP-2 son agonistas de un receptor con el que un péptido GLP-2 nativo puede unirse específicamente. Los análogos y derivados peptídicos de GLP-2 incluyen los descritos, por ejemplo, en el documento de Estados Unidos Ser. N° 08/669.791 y en la Solicitud PCT PCT/CA97/00252.

35 Los análogos de GLP-2 específicos conocidos en la técnica incluyen: GLP-2 de rata o de ser humano alterados en la posición 2 para conferir resistencia a la DPP-IV sustituyendo una Gly por una Ala.

40 Las hormonas peptídicas componentes útiles en la presente divulgación también incluyen hormonas peptídicas de oxintomodulina (OXM). En la técnica se conocen hormonas peptídicas OXM nativas, así como análogos y derivados peptídicos funcionales. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo debe reconocerse que cualquiera de los péptidos de OXM conocidos que presenten actividad hormonal conocida en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación.

45

Cualquier análogo o derivado peptídico de OXM conocido en la técnica puede usarse junto con la presente divulgación. En una realización, los análogos y derivados peptídicos de OXM tienen al menos una actividad hormonal de un péptido de OXM nativo. En determinadas realizaciones, los análogos peptídicos de OXM son agonistas de un receptor con el que un péptido de OXM nativo puede unirse específicamente.

Las hormonas peptídicas componentes útiles en la presente invención como se define en las reivindicaciones también incluyen hormonas peptídicas de exendina. Las hormonas peptídicas de exendina nativas son conocidas en la técnica, así como los análogos y derivados peptídicos funcionales. En el presente documento se describen determinados péptidos nativos, análogos y derivados peptídicos preferidos, sin embargo debe reconocerse que cualquiera de los péptidos de exendina conocidos que presenten actividad hormonal conocida en la técnica puede usarse junto con la presente invención.

Cualquier análogo o derivado del péptido de exendina conocido en la técnica puede usarse junto con la presente invención. Los análogos y derivados peptídicos de exendina tienen al menos una actividad hormonal de un péptido de exendina nativo.

Los análogos peptídicos de exendina son agonistas de un receptor con el que un péptido de exendina nativo puede unirse específicamente.

Los análogos de exendina ejemplares incluyen:

SEC ID:	
185	<sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4
186	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4
187	<sup>14</sup> Leu, <sup>22</sup> Ala, <sup>25</sup> Phe-exendina-4

Como se sabe en la técnica, dichos análogos de exendina están preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente invención, pueden estar opcionalmente en forma ácida salvo que se especifique de otra manera.

En la Solicitud PCT N° de Serie PCT/US98/16387, presentada el 6 de agosto de 1998, titulada "Novel Exendin Agonist Compounds", que reivindica el beneficio de la solicitud de patente de Estados Unidos con N° de Serie 60/055.404, presentada el 8 de agosto de 1997, se describen análogos y derivados de exendina ejemplares adicionales. Otros análogos y derivados de exendina se describen en la Solicitud PCT N° de Serie PCT/US98/24210, presentada el 13 de noviembre de 1998, titulada "Novel Exendin Agonist Compounds", que reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 60/065.442 presentada el 14 de noviembre de 1997.

Incluso, otros análogos y derivados de exendina se describen en la Solicitud PCT N° de Serie PCT/US98/24273, presentada el 13 de noviembre de 1998, titulada "Novel Exendin Agonist Compounds", que reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 60/066.029 presentada el 14 de noviembre de 1997.

Incluso, otros análogos y derivados de exendina se describen en la Solicitud PCT N° de Serie PCT/US97/14199, presentada el 8 de agosto de 1997, titulada "Methods for Regulating Gastrointestinal Activity", que es una continuación en parte de la solicitud de patente de Estados Unidos N° de Serie 08/694.954 presentada el 8 de agosto de 1996.

Incluso, otros análogos y derivados de exendina se describen en la Solicitud PCT N° de Serie PCT/US98/00449, presentada el 7 de enero de 1998, titulada "Use of Exendins and Agonists Thereof for the Reduction of Food Intake", que reivindica prioridad con la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 60/034.905 presentada el 7 de enero de 1997, ambas incorporadas en el presente documento por referencia. Incluso otros análogos y derivados de exendina se describen en el documento US 2004/0209803 A1, presentado el 19 de diciembre del 2003, titulado "Compositions for the Treatment and Prevention of Neuropathy", que se incorpora en el presente documento por referencia.

Péptidos natriuréticos.

Los péptidos natriuréticos son una familia de hormonas que consiste en el péptido natriurético auricular (ANP, siglas en inglés de *Atrial Natriuretic Peptide*), péptido natriurético cerebral (BNP, siglas en inglés de *Brain Natriuretic Peptide*) y péptido natriurético de tipo C (CNP, siglas en inglés de *C-type Natriuretic Peptide*). Estos péptidos se sintetizan y se conservan como 3 prohormonas precursoras distintas, que son el ANP de 126 aminoácidos, el BNP de 108 aminoácidos y el CNP de 104 aminoácidos. Cada uno de ellos está codificado por genes distintos y tienen distintos sitios de síntesis y mecanismos de regulación. Las secuencias peptídicas natriuréticas parentales incluyen:

SEC ID Nº: 375	preprohormona de ANP humano de 151 aminoácidos	MSSFSTTTTVSFLLLLAFLGQTRANPMYNAVSNADL MDFKNLLDHLLEEKMPLEDEVVPPQVLSDPNEEAGAA LSPLPEVPPWTGEVSPAQRDGGALGRGPWDSSDRSAL LKSKLRALLTAPRSLRRSSCFGGRMDRIGAQSGLGCN SERY
SEC ID Nº: 376	preprohormona de BNP humano de 134 aminoácidos	MDPQTAPSRALLLLFLHLAFLGGRSHPLGSPGSASDL ETSGLQEQRNHLQKLSLQVEQTSLEPLQESPRPTGV WKSREVATEGIRGHRKMVLYTLRAPRSPKMVQGGSC FGRKMDRISSSSGLGCKVLRH
SEC ID Nº: 377	Preprohormona de CNP humano de 126 aminoácidos	MHLSQLLACALLLTLSSLRPSEAKPGAPPKVPRTPPAE ELAEPQAAGGGQKKGDKAPGGGGANLKGDRSRLLR DLRVDTKSRAAWARLLQEHPNARKYKGANKKGLSK GCFGLKLDRISSMSGLGC

- 5 El sitio de síntesis principal de la prohormona del ANP es el monocito auricular donde se sintetiza como una preprohormona de 151 aminoácidos. La retirada de un péptido señal de 25 aminoácidos de su extremo N terminal se produce en el retículo endoplasmático, dejando una prohormona de ANP (ProPNA) de 126 aminoácidos, la forma de almacenamiento principal del ANP en el corazón. La prohormona consta de 4 segmentos peptídicos biológicamente activos, los aminoácidos 1-30 (ProANF 1-30, también conocido como estimulador de Na de acción prolongada), 31-67 (ProANF 31-67, también conocido como dilatador de vasos), 79-98 (ProANF 79-98, también conocido como excretor de potasio), y 99-126 (ANF, también conocido como factor natriurético auricular).
- 10 El BNP se aisló originalmente de cerebro porcino pero en seres humanos se sintetiza y se secreta en el ventrículo izquierdo. El análisis de secuencia revela que el preproBNP consta de 134 restos y se escinde en un ProPNB de 108 aminoácidos. La escisión de una secuencia de 32 aminoácidos del extremo C terminal del ProBNP da como resultado el BNP humano (77-108), que es la forma fisiológicamente activa en plasma.
- 15 El CNP es el tercer miembro del sistema peptídico natriurético y se encuentra principalmente en células endoteliales vasculares humanas, riñón y cerebro porcino. Altas concentraciones de CNP también se encuentran en el hipotálamo y mesencéfalo humano. En seres humanos, el preproCNP es un precursor de 126 aminoácidos procesado en proCNP por escisión de 23 restos de su extremo N terminal. Esta secuencia de 23 aminoácidos funciona como un péptido señal. Los 22 aminoácidos terminales (105-126) se escinden del proCNP para dar una forma biológicamente activa de CNP.
- 20 La urodilatina es un miembro de la familia de péptidos natriuréticos derivados de riñón y está formada a partir de la misma prohormona de ANP y consta de 95-126 aminoácidos. Excepto por la extensión N terminal de 4 aminoácidos, es idéntica al ANF (99-126). La urodilatina parece ser un regulador importante del procesamiento de sodio y de agua en el riñón, así como un mediador de la excreción de sodio en pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva (ICC).
- 25 Los péptidos natriuréticos ejercen sus efectos biológicos uniéndose a receptores de alta afinidad en la superficie de células diana. Se han aislado tres subtipos de NPR: NPR-A, NPR-B y NPRC. En consecuencia, en una realización se proporciona un método para explorar la unión a y/o la activación de receptores natriuréticos. Los péptidos natriuréticos incluyen variantes de prohormonas que confieren numerosas actividades hormonales peptídicas natriuréticas a los híbridos de la invención. En otras realizaciones de interés se encuentran los híbridos antagonistas natriuréticos. La natriuresis es la excreción de una cantidad excesivamente grande de sodio en la orina. La natriuresis es similar a la diuresis (la excreción de una cantidad inusualmente grande de orina), salvo que en la natriuresis la orina es excepcionalmente salina. La natriuresis se produce con algunos diuréticos y enfermedades (como las de tipo adrenal) y puede conducir al síndrome de pérdida de sales, caracterizado por deshidratación, vómitos, disminución de presión arterial y riesgo de muerte súbita. La administración exógena de los 4 péptidos en circulación independientes de la prohormona ANP (1-30, 31-67, 79-98 y 99-126) produce vasodilatación *in vivo* diuresis, supresión del sistema renina – angiotensina - aldosterona y natriuresis y/o caliuresis potenciada. Cada una de ProANF 1-30, ProANF 31-67 y ANF 99-126 tiene propiedades natriuréticas, reductoras de la presión arterial y diurética, teniendo ProANF 31-67 y ANF 99-126 el mayor impacto sobre la presión arterial. Hay varios efectos de los péptidos ANP sobre la homeostasis del potasio: ProANF 79-98 estimula la excreción de potasio, mientras que ProANF 31-67 repone la pérdida de potasio inhibiendo la ATPasa Na/K en las células de los conductos colectores medulares. Específica del ANF 99-126 es una inhibición dependiente de la dosis de la secreción de aldosterona mediada por angiotensina II, mientras que proANF 31-67 tiene la propiedad de inducir la natriuresis a través de la generación de prostaglandina.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50 El BNP produce efectos biológicos similares al ANF en seres humanos normales. Infusiones de BNP en ser humano normal duplica la excreción de sodio, reduce a la mitad la renina plasmática, la secreción de angiotensina II y aldosterona así como la reducción en el volumen plasmático.
- El CNP induce efectos cardiovasculares similares al resto de péptidos natriuréticos pero no parece mediar ningún efecto renal. Cuando el CNP se infunde en perros anestesiados a dosis equivalentes de ANF, el GMPc plasmático

asciende con una reducción simultánea de la presión arterial media, presión arterial derecha y rendimiento cardiaco, pero la tasa de filtración glomerular, el flujo sanguíneo renal y la excreción de sodio disminuyen.

Los péptidos natriuréticos pueden proporcionar un beneficio terapéutico en la insuficiencia cardiaca. La insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) está asociada con aumentos de vasopresina, endotelina y con la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, y sistema nervioso simpático, mediando la vasoconstricción, reteniendo el sodio y agua y remodelando la función cardiaca y vascular negativa. Estos efectos ocurren a pesar de los niveles elevados de los péptidos natriuréticos en pacientes con insuficiencia cardiaca. En una realización de la invención son los híbridos los que proporcionan niveles aumentados o terapéuticos en suero de la actividad de los péptidos natriuréticos para el tratamiento o la prevención de enfermedades y afecciones relacionadas con el corazón, incluyendo la ICC. Aunque la infusión de ANP en individuos normales puede dar como resultado un aumento prolongado en las tasas de excreción de sodio y flujo de orina, en el paciente con insuficiencia cardiaca puede obtenerse una reducción beneficiosa notable en la respuesta renal. La infusión de BNP aumenta notablemente la excreción de sodio en pacientes con insuficiencia cardiaca y ejerce efectos hemodinámicos beneficiosos significativos. En comparación con el ANP, los efectos diuréticos y natriuréticos del BNP son significativamente mayores. El BNP es claramente más lento que el ANP y ejerce otros efectos que incluyen supresión de la secreción de aldosterona y aumento de los niveles en suero de ANP. Los péptidos BNP también pueden proporcionar una disminución beneficiosa de la presión de enclavamiento capilar pulmonar, resistencia vascular sistémica, presión de la arteria derecha y presión arterial sistólica, con un aumento del índice cardiaco en pacientes hospitalizados con ICC asintomática. En pacientes con insuficiencia cardiaca descompensada, los híbridos peptídicos natriuréticos pueden proporcionar una disminución beneficiosa de la presión de enclavamiento capilar pulmonar y una puntuación de disnea mejorada. (La disnea es una sensación desagradable de dificultad al respirar, típicamente asociada con etapas previas de insuficiencia cardiaca). Los híbridos que contienen una, dos o tres funciones hormonales natriuréticas proporcionan métodos de administración de composiciones farmacéuticamente activas que son útiles para el tratamiento tanto profiláctico como terapéutico de pacientes con ICC, preferentemente pacientes con ICC que están descompensados, pacientes con ICC crónica y pacientes con hipertensión. La parte (o partes) natriurética de un híbrido es suficiente para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido natriurético a dicho paciente cuando se administra a una dosis terapéuticamente eficaz durante un periodo terapéuticamente eficaz.

Como se indica en el presente documento puede usarse cualquier familia de péptidos natriuréticos terapéuticamente eficaz o sus análogos. Los péptidos natriuréticos útiles incluyen, por ejemplo, el péptido natriurético auricular (ANP), el péptido natriurético cerebral (BNP o el péptido natriurético de tipo B) y el péptido natriurético de tipo C (CNP). Las secuencias de las formas útiles de los péptidos natriuréticos se desvelan en la Publicación de Patente de Estados Unidos 20010027181, que se incorpora en el presente documento por referencia. Los ejemplos de ANP incluyen ANP humano (Kangawa *et al.*, BBRC 118: 131 (1984)) o los de diversas especies, incluyendo ANP de cerdo y rata (Kangawa *et al.*, BBRC 121: 585 (1984)). Dichos ANP comprenden 28 aminoácidos. Dichos ANP pueden administrarse como un péptido que tiene una estructura anular de ANP (formación de un enlace disulfuro basado en Cys), y una parte C terminal detrás de la estructura anular. Un ejemplo de dicho péptido es un péptido que tiene restos de aminoácidos desde la posición 7 a la posición 28 del ANP proporcionado en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 20010027181. Otro ejemplo es el ANP de rana. Los ejemplos específicos de BNP que pueden usarse en los métodos de la invención incluyen el BNP humano (hBNP). El BNP humano comprende 32 aminoácidos e implica la formación de un enlace disulfuro (Sudoh *et al.*, BBRC 159: 1420 (1989)) y los de las Patentes de Estados Unidos Nº 5.114.923, 5.674.710, 5.674.710 y 5.948.761, cada una de las cuales se incorpora por referencia. También se conocen y pueden usarse diversos BNP de origen distinto al del ser humano, que incluyen BNP de cerdo y BNP de rata. Un ejemplo adicional es el BNP de pollo. Los ejemplos de CNP que pueden usarse en los métodos de la invención incluyen CNP de cerdo. El CNP de cerdo comprende 22 aminoácidos e implica la formación de un enlace disulfuro, al igual que el ANP y BNP descritos anteriormente (Sudoh *et al.*, BBRC 168: 863 (1990)) (el ser humano y la rata tienen la misma secuencia de aminoácidos), el CNP de pollo (Arimura *et al.*, BBRC 174: 142 (1991)). El CNP de rana (Yoshihara *et al.*, BBRC 173: 591 (1990)) también puede usarse. Como se indica en el presente documento, un experto en la técnica puede aplicar modificaciones, tales como una delección, sustitución, adición o inserción y/o modificaciones químicas a los restos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de un péptido natriurético conocido según se desee, mediante métodos conocidos. El compuesto resultante es un compuesto que tiene actividad para actuar en un receptor del ANP, BNP o CNP de partida. Por lo tanto, los análogos que tienen esta actividad se incluyen en los híbridos para su uso de acuerdo con los métodos de la presente divulgación.

En otra realización, los híbridos que contienen una o más funciones natriuréticas pueden usarse en el tratamiento de la hipertensión. En una realización, un híbrido natriurético no tendrá efecto nocivo sobre la frecuencia cardiaca y no estará asociado con arritmias. En una realización el híbrido comprenderá al menos una, dos o tres funciones peptídicas natriuréticas, por ejemplo, actividad tanto ANP como BNP. Una o más funciones hormonales natriuréticas pueden combinarse con cualquier otra función hormonal o potenciador peptídico como se describe en el presente documento. En otra realización la parte (o partes) natriurética es un análogo más estable que tiene una semivida *in vivo* prolongada cuando se compara con la de un péptido natriurético nativo. También se contemplan análogos que impiden la escisión indeseable por enzimas endógenas, tales como NEP. Los híbridos que contienen natriuréticos también se dirigen adicionalmente a reducir la hipertensión, a inducir la diuresis, la natriuresis, la dilatación o relajación de los conductos vasculares, a unirse a receptores peptídicos natriuréticos (tales como NPR-A), a la

supresión de la secreción de renina del riñón, supresión de la secreción de aldosterona de la glándula adrenal, al tratamiento de enfermedades y trastornos cardiovasculares, a la reducción, detención o inversión de la remodelación cardiaca en la insuficiencia cardiaca congestiva, al tratamiento de enfermedades y trastornos renales; al tratamiento o prevención de ictus isquémico y al tratamiento de asma. Los híbridos pueden administrarse a pacientes que podrían beneficiarse de la inducción de la natriuresis, diuresis y vasodilatación. Los híbridos pueden administrarse en solitario o en combinación con uno o más de los siguientes tipos de compuestos: inhibidores de ACE, beta-bloqueadores, diuréticos, espironolactona, digoxina, agentes anticoagulantes y antiplaquetarios, y bloqueadores de receptores de angiotensina. Las enfermedades o afecciones adicionales incluyen trastornos y enfermedades renales, asma, hipertensión e hipertensión pulmonar. Los híbridos son también útiles para tratar enfermedades inflamatorias relacionadas, disfunción eréctil e hipercolesterolemia.

Módulos hormonales peptídicos bioactivos

Como se indica en el presente documento los polipéptidos híbridos de la presente invención, como se define en las reivindicaciones, comprenden al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos ligados entre sí por enlace covalente. Los módulos hormonales peptídicos bioactivos pueden ser: (a) hormonas peptídicas componentes nativas, (b) análogos o derivados de hormonas peptídicas componentes nativas que conservan actividad hormonal, (c) fragmentos de hormonas peptídicas componentes nativas que conservan la actividad hormonal (d) fragmentos de análogos o derivados de hormonas peptídicas componentes nativas que conservan actividad hormonal, (e) motivos estructurales de hormonas peptídicas componentes nativas que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptores, inhibición de proteasas, unión a proteínas plasmáticas y/u otras características farmacocinéticas deseadas; o (f) motivos estructurales de análogos o derivados de hormonas peptídicas componentes nativas que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptores, inhibición de proteasas, unión a proteínas plasmáticas y/u otras características farmacocinéticas deseadas. En el presente documento los motivos estructurales de (e) y (f) se denominarán en su conjunto "potenciadores peptídicos".

Los módulos hormonales peptídicos bioactivos preferidos incluyen hormonas peptídicas nativas seleccionadas de: amilina, ADM, CT, CGRP, intermedina, CCK(1-33), CCK-8, leptina, PYY(1-36) (SEC ID N°: 57), PYY(3-36) (SEC ID N°: 58), GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59), GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204), GLP-1(7-36) (SEC ID N°: 61), GLP-2, OXM, exendina-3, exendina-4, hormonas peptídicas natriuréticas, péptidos de la familia de urocortina, por ejemplo, Ucn-2 y Ucn-3, péptidos de la familia de neuromedina, por ejemplo, neuromedina U25 o variantes de corte y empalme y ANP, BNP, CNP o urodilatina.

Otros módulos hormonales peptídicos bioactivos preferidos incluyen análogos y derivados de una hormona peptídica componente seleccionada de : amilina, ADM, CT, CGRP, intermedina, CCK, leptina, PYY(1-36) (SEC ID N°: 57), PYY(3-36) (SEC ID N°: 58), GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59), GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204), GLP-1(7-36) (SEC ID N°: 61), GLP-2, OXM, exendina-3 y exendina-4, hormonas peptídicas natriuréticas, péptidos de la familia de urocortina, por ejemplo, Ucn-2 y Ucn-3, péptidos de la familia de neuromedina, por ejemplo, neuromedina U25 o variantes de corte y empalme y ANP, BNP, CNP o urodilatina, donde el análogo o derivado presenta al menos una actividad hormonal de la hormona peptídica componente. El análogo puede comprender una o más inserciones, deleciones o sustituciones de la secuencia de aminoácidos de la hormona peptídica componente y el derivado puede comprender una o más modificaciones químicas de un resto de aminoácido de un análogo u hormona peptídica componente, como se describe en el presente documento más completamente y como se sabe en la técnica.

Más específicamente, pueden seleccionarse análogos y derivados de cualquiera de los descritos anteriormente y/o conocidos en la técnica. Los análogos y derivados particularmente preferidos que presenten al menos una actividad hormonal útil como módulos hormonales peptídicos bioactivos de la divulgación incluyan los siguientes:

Amilina:	<sup>2</sup> Ala-h-amilina (SEC ID N°: 79), <sup>2,7</sup> Ala-h-amilina (SEC ID N°: 80), <sup>28</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 189), <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 83), <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 67), <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28,29</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 69), <sup>18</sup> Arg, <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 70), <sup>18</sup> Arg, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 72), <sup>25</sup> Pro, <sup>26</sup> Val, <sup>28,29</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 75), <sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>25,28,29</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 89), <sup>18</sup> Arg, <sup>23</sup> Leu, <sup>25,28</sup> Pro-h-amilina (SEC ID N°: 90), y 2,7-Ciclo-[ <sup>2</sup> Asp, <sup>7</sup> Lys]-h-amilina (SEC ID N°: 76)
CT:	<sup>14</sup> Glu-sCT (SEC ID N°: 106), <sup>18</sup> Arg-sCT (SEC ID N°: 107), <sup>11,18</sup> Arg-sCT (SEC ID N°: 108), <sup>14</sup> Glu, <sup>18</sup> Arg-sCT (SEC ID N°: 109), <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCT (SEC ID N°: 110)
CGRP:	<sup>36</sup> D-Ser-CGRP (SEC ID N°: 111), <sup>36</sup> D-Thr-CGRP (SEC ID N°: 112), <sup>36</sup> D-Asp-CGRP (SEC ID N°: 113), <sup>36</sup> D-Asn-CGRP (SEC ID N°: 114), <sup>36</sup> Ser-CGRP (SEC ID N°: 115), <sup>36</sup> Hse-CGRP (SEC ID N°: 116), <sup>36</sup> Asp-CGRP (SEC ID N°: 117), <sup>36</sup> Thr-CGRP (SEC ID N°: 118), <sup>36</sup> Asn-CGRP (SEC ID N°: 119)
AFP-6:	TQAQLLRVGCNLSCTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSP HSY (SEC ID N°: 120) TQAQLLRVGCNTATCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSPH SY (SEC ID N°: 121) TQAQLLRVGMVLGTMQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVDPSSP HSY (SEC ID N°: 122)



	TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAGRQDSAPVEPSSPH SY (SEC ID N°: 123) TQAQLLRVGCVLGTCQVQNLSHRLWOLMGPAGROESAPVEPSSPH SY (SEC ID N°: 124)
CCK:	DY(OSO <sub>3</sub> H)MGWMDf (SEC ID N°: 141), DYMGWMDf (SEC ID N°: 142), MGWMDf (SEC ID N°: 143), GWMDf (SEC ID N°: 144), WMDf (SEC ID N°: 145), KDY(OSO <sub>3</sub> MMGWMDf (SEC ID N°: 146), KDYMGWMDf (SEC ID N°: 147), KMGWMDf (SEC ID N°: 148), KGWMDf (SEC ID N°: 149), KWMDf (SEC ID N°: 150)
Leptina:	<sup>43</sup> Asp-leptina (SEC ID N°: 151), <sup>43</sup> Gln-leptina (SEC ID N°: 152), <sup>48</sup> Ala-leptina (SEC ID N°: 153), <sup>49</sup> Glu-leptina (SEC ID N°: 154), <sup>49</sup> Des-AA-leptina (SEC ID N°: 155), <sup>75</sup> Ala-leptina (SEC ID N°: 156), <sup>89</sup> Leu-leptina (SEC ID N°: 157), <sup>93</sup> Asp-leptina (SEC ID N°: 158), <sup>93</sup> Glu-leptina (SEC ID N°: 159), <sup>98</sup> Ala-leptina (SEC ID N°: 160), <sup>139</sup> Leu-leptina (SEC ID N°: 162),
PYY:	<sup>3</sup> Leu-PYY (SEC ID N°: 192), <sup>3</sup> Val-PYY (SEC ID N°: 193), <sup>4</sup> Arg-PYY (SEC ID N°: 194), <sup>4</sup> Gln-PYY (SEC ID N°: 195), <sup>4</sup> Asn-PYY (SEC ID N°: 196), <sup>25</sup> Lys-PYY (SEC ID N°: 197), <sup>34</sup> Pro-PYY (SEC ID N°: 198), <sup>34</sup> His-PYY (SEC ID N°: 199), <sup>1,36</sup> Tyr-PYY (SEC ID N°: 57), <sup>13</sup> Pro <sup>14</sup> Ala-PYY (SEC ID N°: 200), <sup>31</sup> Leu <sup>34</sup> Pro-PYY (SEC ID N°: 201), des-AA-4-PYY (SEC ID N°: 202)
GLP-1	<sup>9</sup> Gln-GLP- <sup>18</sup> (7-37) (SEC ID N°: 168), D- <sup>9</sup> Gln-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 169), <sup>16</sup> Thr- <sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 170), <sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 171), <sup>8</sup> Gly-GLP-1 (7-36) (SEC ID N°: 172), <sup>9</sup> Gln-GLP-1 (7-37) (SEC ID N°: 173), D- <sup>9</sup> Gln-GLP-1 (7-37) (SEC ID N°: 174), acetyl- <sup>9</sup> Lys-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 175), <sup>9</sup> Thr-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 176), D- <sup>9</sup> Thr-GLP-1 (7-37) (SEC ID N°: 177), <sup>9</sup> Asn-GLP-1 (7-37) (SEC ID N°: 178), D- <sup>9</sup> Asn-GLP-1 (7-37) (SEC ID N°: 179), <sup>22</sup> Ser <sup>23</sup> Arg <sup>24</sup> Arg <sup>26</sup> Gln-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 180), <sup>16</sup> Thr <sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 181), <sup>18</sup> Lys-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 182), <sup>23</sup> Arg-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 183), <sup>24</sup> Arg-GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 184)
Exendina	<sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4 (SEC ID N°: 185), <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4 (SEC ID N°: 185), <sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4 (SEC ID N°: 186), y <sup>14</sup> Leu, <sup>22</sup> Ala, <sup>25</sup> phe-exendina-4 (SEC ID N°: 187).

Como se sabe en la técnica, dichos compuestos peptídicos pueden estar preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente invención, pueden estar opcionalmente en forma ácida a menos que se especifique otra cosa.

5 Incluso otros módulos hormonales peptídicos bioactivos preferidos incluyen fragmentos de una hormona peptídica componente seleccionada de: amilina, ADM, CT, CGRP, intermedina, CCK, leptina, PYY(1-36) (SEC ID N°: 57), PYY(3-36) (SEC ID N°: 58), GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59), GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204), GLP-1(7-36) (SEC ID N°: 61), GLP-2, OXM, un péptido natriurético, exendina-3 y exendina-4, péptidos de la familia de urocortina, por ejemplo, Ucn-2 y Ucn-3, péptidos de la familia de neuromedina, por ejemplo, neuromedina U25 o variantes de corte y empalme y ANP, BNP, CNP o urodilatina, en el que el que el fragmento presenta al menos una actividad hormonal de la hormona peptídica componente.

15 Incluso otros módulos hormonales peptídicos bioactivos preferidos incluyen fragmentos de análogos o derivados de una hormona peptídica componente seleccionada de: amilina, ADM, CT, CGRP, intermedina, CCK, leptina, PYY(1-36) (SEC ID N°: 57), PYY(3-36) (SEC ID N°: 58), GLP-1(1-37) (SEC ID N°: 59), GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204), GLP-1(7-36) (SEC ID N°: 61), GLP-2, OXM, ANP, BNP, CNP, urodilatina, exendina-3, exendina-4, hormonas peptídicas natriuréticas, péptidos de la familia de urocortina, por ejemplo, Ucn-2 y Ucn-3, péptidos de la familia de neuromedina, por ejemplo, neuromedina U25 o variantes de corte y empalme y ANP, BNP, CNP o urodilatina, en el que el fragmento presenta al menos una actividad hormonal de la hormona peptídica componente. De nuevo, el análogo puede comprender una o más inserciones, deleciones o sustituciones de la secuencia de aminoácidos de la hormona peptídica componente y el derivado puede comprender una o más modificaciones químicas de un resto de aminoácido de un análogo u hormona peptídica componente, como se describe de modo más completo en la presente memoria y como se sabe en la técnica.

25 Determinados fragmentos preferidos que presentan al menos una actividad hormonal incluyen lo siguiente. Sin embargo, debe entenderse que se contemplan combinaciones de los análogos y derivados descritos anteriormente considerados en conjunto con fragmentos conocidos en la técnica, incluyendo los fragmentos preferidos descritos más adelante.

30

Amilina:	amilina(1-36) (SEC ID N°: 210), amilina(1-35) (SEC ID N°: 211), amilina(1-20) (SEC ID N°: 212), amilina(1-18) (SEC ID N°: 213), amilina(1-17) (SEC ID N°: 214), amilina (1-16) (SEC ID N°: 215), amilina(1-15) (SEC ID N°: 216), amilina(1-7) (SEC ID N°: 217)
CT:	CT(8-32) (SEC ID N°: 218), CT(8-27) (SEC ID N°: 219), CT(8-26) (SEC ID N°: 220), CT(8-10) (SEC ID N°: 221), CT(18-26) (SEC ID N°: 222), CT(18-27) (SEC ID N°: 223)
AFP-6:	AFP-6(18-27) (SEC ID N°: 224)
CCK:	CCK-8, CCK-5, CCK-4
Leptina:	leptina (22-167) (SEC ID N°: 225), leptina(56-73) (SEC ID N°: 226)
PYY:	PYY(1-35) (SEC ID N°: 227), PYY(1-30) (SEC ID N°: 228), PYY(1-25) (SEC ID N°: 229), PYY(1-15) (SEC ID N°: 230), PYY(1-10) (SEC ID N°: 231), PYY(2-36) (SEC ID N°: 232), PYY(3-36) (SEC ID N°: 233)

	58), PYY(4-36) (SEC ID N°: 233), PYY(5-36) (SEC ID N°: 234)
GLP-1	GLP-1(7-37) (SEC ID N°: 204), GLP-1(7-36) (SEC ID N°: 61), GLP-1(7-35) (SEC ID N°: 235)
Exendina	exendina-4(1-27) (SEC ID N°: 236), exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 237), exendina-4(1-29) (SEC ID N°: 238), exendina-4(1-30) (SEC ID N°: 239) o más larga.

De nuevo, como se sabe en la técnica, dichos compuestos peptídicos pueden estar preferentemente amidados, pero en el contexto de la presente invención, opcionalmente pueden estar en forma ácida a menos que se especifique otra cosa. Además, los fragmentos preferidos anteriores pueden combinarse con cualquiera de los análogos o derivados indicados en el presente documento o conocidos en la técnica. Por ejemplo, los fragmentos de análogos preferidos pueden incluir <sup>5</sup>Ala, <sup>14</sup>Leu, <sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 240), <sup>14</sup>Leu, <sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-27) (SEC ID N°: 241), <sup>5</sup>Ala, <sup>14</sup>Leu, <sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 240), <sup>14</sup>Leu, <sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-27) (SEC ID N°: 241), o cualquier otra combinación de los fragmentos, análogos y derivados indicados.

Incluso otros módulos peptídicos bioactivos preferidos incluyen "potenciadores peptídicos", es decir, motivos estructurales de hormonas peptídicas componentes (incluyendo sus análogos y derivados) que confieren al polipéptido híbrido una estabilidad química, estabilidad conformacional, estabilidad metabólica, biodisponibilidad, direccionamiento a órgano/tejido, interacción con receptores, inhibición de proteasas, unión con proteínas plasmáticas y/u otras características farmacocinéticas deseadas. Los potenciadores peptídicos ejemplares incluyen los siguientes. De nuevo, debe entenderse que se contemplan las combinaciones de los análogos y derivados descritos anteriormente considerados en conjunto con los siguientes módulos peptídicos bioactivos. Por ejemplo, también se contemplan los últimos seis restos de aminoácidos de los análogos y derivados hormonales peptídicos de la familia de la amilina conocidos en la técnica y/o descritos anteriormente, como módulos peptídicos bioactivos preferidos.

Familia de Amilina	amilina(32-37) (SEC ID N°: 242), amilina(33-37) (SEC ID N°: 243), amilina(34-37) (SEC ID N°: 244), amilina(35-37), amilina(36-37), amilina(37), ADM(47-52) (SEC ID N°: 245), ADM(48-52) (SEC ID N°: 246), ADM(49-52) (SEC ID N°: 247), ADM(50-52), ADM(51-52), ADM(52), CT(27-32) (SEC ID N°: 248), CT(27-32) (SEC ID N°: 249), CT(28-32) (SEC ID N°: 250), CT(29-32), CT(30-32), CT(31-32), CT(32), CGRP(32-37) (SEC ID N°: 251), CGRP(33-37) (SEC ID N°: 252), CGRP(34-37) (SEC ID N°: 253), CGRP(35-37), CGRP(36-37), CGRP(37), intermedina (42-47) (SEC ID N°: 254), intermedina (43-47) (SEC ID N°: 255), intermedina (44-47) (SEC ID N°: 256), intermedina (45-47), intermedina (46-47), intermedina (47)
PYY	PYY(25-36) (SEC ID N°: 257), PYY(26-36) (SEC ID N°: 258), PYY(27-36) (SEC ID N°: 259), PYY(28-36) (SEC ID N°: 260), PYY(29-36) (SEC ID N°: 261), PYY(30-36) (SEC ID N°: 262), PYY(31-36) (SEC ID N°: 263), PYY(32-36) (SEC ID N°: 264), PYY(25-35) (SEC ID N°: 265), PYY(26-35) (SEC ID N°: 266), PYY(27-35) (SEC ID N°: 267), PYY(28-35) (SEC ID N°: 268), PYY(29-35) (SEC ID N°: 269), PYY(30-35) (SEC ID N°: 270), PYY(31-35) (SEC ID N°: 271), PYY(32-35) (SEC ID N°: 272)
GLP-1 y 2	GLP-1(29-37) de rana (SEC ID N°: 273); GLP-1(30-37) de rana (SEC ID N°: 274); GLP-2(24-31) de rana (SEC ID N°: 275), GLP-2(25-31) de rana (SEC ID N°: 276)
Exendina-4	exendina-4(31-39) (SEC ID N°: 277), exendina-4(32-39) (SEC ID N°: 278), exendina-4(33-39) (SEC ID N°: 279), exendina-4(34-39) (SEC ID N°: 280), exendina-4(35-39) (SEC ID N°: 281), exendina-4(36-39) (SEC ID N°: 282), exendina-4(37-39), exendina-4(38-39), exendina-4(39)

Consideraciones de selección del módulo peptídico, espaciadores, grupos enlazadores

Los polipéptidos híbridos de la presente invención como los definidos en las reivindicaciones comprenden al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos de la invención, en los que al menos uno de los módulos hormonales peptídicos bioactivos presenta al menos una actividad hormonal. El módulo hormonal peptídico bioactivo que presenta la al menos una actividad hormonal puede localizarse en el extremo N terminal del polipéptido híbrido, en el extremo C terminal del polipéptido híbrido, o en el caso en el que el polipéptido híbrido comprenda más de dos módulos hormonales peptídicos bioactivos, puede localizarse en la parte interna del polipéptido híbrido.

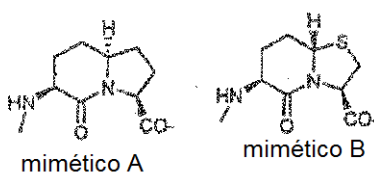
En determinadas realizaciones, puede ser preferible localizar el módulo hormonal peptídico bioactivo que presenta la al menos una actividad hormonal, de tal manera que el extremo C terminal del módulo hormonal peptídico bioactivo esté amidado. La amidación del extremo C terminal del módulo hormonal peptídico bioactivo puede realizarse localizando el módulo en el extremo C terminal del péptido híbrido, o configurando el módulo en dirección C terminal a N terminal en el extremo N terminal del polipéptido híbrido. En ambas configuraciones, el extremo C terminal del módulo hormonal peptídico bioactivo está disponible para la amidación. Las hormonas peptídicas componentes específicas en las que la amidación C terminal puede ser preferible incluyen hormonas peptídicas de la familia de la amilina, CCK, PYY, hGLP-1(7-36) (SEC ID N°: 61) y hGLP-2. Las hormonas peptídicas componentes específicas en las que la amidación C terminal no se prefiere necesariamente (dicho de otra manera, en las que la elongación en el extremo C terminal del módulo se tolera fácilmente) incluyen exendina-4, exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 237), GLP-

1(7-37) (SEC ID N°: 204), GLP-1(7-36) de rana (SEC ID N°: 283) y GLP-2 de rana. Sin embargo, si estas hormonas peptídicas componentes se localizan en el extremo C terminal del polipéptido híbrido, opcionalmente pueden estar amidadas, y de hecho pueden estar preferentemente de un modo opcional amidadas.

5 Los módulos hormonales peptídicos bioactivos pueden estar ligados por enlace covalente de cualquier manera conocida en la técnica. Pueden usarse ligamientos estables o escindibles. En una realización, el carboxi de un primer módulo puede ligarse directamente con el amino de un segundo módulo. En otra realización, pueden usarse grupos enlazadores para unir módulos. Además, si se desea, para estabilizar el ligamiento pueden emplearse espaciadores o inductores de giro conocidos en la técnica. Como ejemplo, cuando no desea la amidación del extremo C terminal del módulo hormonal peptídico bioactivo localizado en el extremo N, el módulo puede unirse a un segundo módulo directamente, o usar cualquier grupo enlazador apropiado conocido en la técnica, tal como, un alquilo; PEG; un aminoácido, por ejemplo Lys, Glu,  $\beta$ -Ala; poliaminoácidos, por ejemplo poli-his, poli-arg, poli-lys, poli-ala, Gly-Lys-Arg (GKR) etc.; enlazadores bifuncionales (véase, por ejemplo, el catálogo de Pierce Rockford, II); aminocaproilo ("Aca"),  $\beta$ -alanilo, 8-amino-3,6-dioxaoctanoilo, u otro enlazador escindible y no escindible conocido en la técnica. Específicamente descritas en el presente documento, como si cada una de ellas se obtuviera explícitamente, son realizaciones de híbridos específicos en las que el enlazador en cada híbrido que contiene un enlazador ilustrado, se reemplaza por un enlazador de Gly, particularmente realizaciones en las que el enlazador de Gly es Gly-Gly-Gly. Como un ejemplo, para especies ilustradas <sup>29</sup>5 Apa-Exendina(1-28)-<sup>1</sup>des-Lys-hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37) (SEC ID N°: 32) (véanse las tablas del presente documento) su análogo de especie enlazadora de Gly también se contempla y se desvela específicamente. Esta especie es <sup>29</sup>GlyGlyGly-Exendina(1-28)-<sup>1</sup>des-Lys-hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37) (SEC ID N°: 313), en la que las tres glicinas se localizan después de la secuencia de exendina(1-28). En una realización un enlazador o espaciador tiene un longitud de 1 a 30 restos, en otra realización de 2 a 30 restos, e incluso en otra, una longitud de 3 a 30 restos y cualquier longitud de un número entero de 2 a 30 inclusive; cada unidad de número entero se contempla, por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7, etc. En una realización, se usa un enlazador de Gly y en una realización particular se usa un enlazador de tres restos Gly-Gly-Gly.

30 Cuando se desea la amidación del extremo C terminal del módulo hormonal peptídico bioactivo localizado en el extremo N, el módulo puede de nuevo unirse a un segundo módulo usando cualquier grupo enlazador apropiado conocido en la técnica. Más específicamente, en el caso en el que un módulo hormonal peptídico bioactivo que presente al menos una actividad hormonal se haya configurado en la orientación C terminal a N terminal, dando como resultado un enlace amino - amino, los grupos enlazadores preferidos incluyen ácidos dicarboxílicos, alquilos, PEG y aminoácidos tales como Lys, Cys y Glu.

35 Como se ha mencionado anteriormente, los polipéptidos híbridos también pueden incluir preferentemente espaciadores para estabilizar adicionalmente el enlace de los módulos hormonales peptídicos bioactivos. Puede usarse cualquier espaciador o inductor de giro conocido en la técnica. Como ejemplo, los denominados miméticos de giro  $\beta$  incluyen el mimético A y el mimético B ilustrados más adelante, también los dipéptidos Ala-Aib y Ala-Pro. Sus nombres IUPAC son Mimético A: ácido *N*-(3S,6S,9S)-2-oxo-3-amino-1-azabicyclo[4.3.0]-nonano-9-carboxílico. Mimético B: ácido *N*-(3S,6S,9R)-2-oxo-3-amino-7-tia-1-azabicyclo[4.3.0]-nonano-9-carboxílico.



45 Combinaciones ejemplares y realizaciones específicas adicionales

Las combinaciones ejemplares de los módulos hormonales peptídicos bioactivos para formar los polipéptidos híbridos de la divulgación incluyen combinaciones de dos o más módulos hormonales peptídicos bioactivos seleccionados de: hormonas peptídicas nativas, análogos y derivados de hormonas peptídicas que presenten al menos una actividad hormonal, fragmentos de hormonas peptídicas nativas que presenten al menos una actividad hormonal, fragmentos de análogos y derivados de hormonas peptídicas que presenten al menos una actividad hormonal, y potenciadores peptídicos, con la condición de que al menos un módulo presente al menos una actividad hormonal.

55 Los polipéptidos híbridos de la invención incluirán al menos dos módulos hormonales peptídicos bioactivos, en los que cada módulo comprende hormonas peptídicas componentes. En el contexto de la presente divulgación, las hormonas peptídicas componentes del polipéptido híbrido pueden ser iguales o diferentes, con la condición de que al menos dos de las hormonas peptídicas componentes sean diferentes. En una divulgación preferida, al menos dos de las hormonas peptídicas componentes son de diferentes familias de hormonas peptídicas, por ejemplo, la familia de la amilina, CCK, la familia de la leptina, PPF, la familia del proglucagón, la familia de péptidos natriuréticos, los

péptidos de la familia de urocortina, por ejemplo Ucn-2 y Ucn-3, péptidos de la familia de neuromedina, por ejemplo neuromedina U25 o variantes de corte y empalme, y ANP, BNP, CNP o urodilatina y el GLP-1 y la familia de la exendina.

5 En determinadas realizaciones, los polipéptidos híbridos de la divulgación pueden comprender dos o más módulos que presenten al menos una actividad hormonal. Por ejemplo, el polipéptido híbrido puede comprender un fragmento de una primera hormona peptídica o análogo que presente al menos una actividad hormonal, ligado por enlace covalente a un fragmento de al menos un análogo hormonal peptídico adicional. El fragmento (o fragmentos) adicional puede presentar opcionalmente al menos una actividad hormonal. La primera hormona peptídica puede ser igual o diferente de la hormona (u hormonas) peptídica adicional, con la condición de que al menos una de las hormonas peptídicas adicionales sean diferentes de la primera hormona peptídica, y que la primera actividad hormonal pueda ser igual o diferente de la actividad hormonal adicional opcional.

10 En otras realizaciones, los polipéptidos híbridos de la divulgación pueden comprender uno o más módulos que presenten al menos una actividad hormonal en combinación con uno o más módulos potenciadores peptídicos. Por ejemplo, un fragmento de una primera hormona peptídica que presente al menos una actividad hormonal puede ligarse por enlace covalente a un potenciador peptídico, o un fragmento de una primera hormona peptídica que presente al menos una actividad hormonal puede ligarse por enlace covalente a una segunda hormona peptídica que presente al menos una actividad hormonal, que a su vez esté ligada a un potenciador peptídico. Como alternativa, puede colocarse un potenciador peptídico entre dos módulos hormonales peptídicos como un espaciador estabilizante. De nuevo, la primera hormona peptídica puede ser igual o diferente de la segunda hormona peptídica, y la primera actividad hormonal puede ser igual o diferente de la segunda actividad hormonal.

15 Los polipéptidos híbridos de la invención pueden comprender dos, tres, cuatro o más módulos hormonales peptídicos bioactivos. Las combinaciones ejemplares de la divulgación incluyen un módulo con una actividad hormonal en combinación con uno, dos o tres potenciadores peptídicos; dos módulos con una actividad hormonal en combinación con uno o dos potenciadores peptídicos, tres módulos con una actividad hormonal en combinación con un potenciador peptídico, etc.

20 Las hormonas peptídicas componentes se seleccionan preferentemente de amilina, adrenomedulina, calcitonina, péptido relacionado con el gen de calcitonina, intermedina, colecistoquinina, leptina, péptido YY, péptido 1 similar a glucagón, péptido 2 similar a glucagón, oxintomodulina, ANP, BNP, CNP, urodilatina, hormonas peptídicas natriuréticas, péptidos de la familia de la urocortina, por ejemplo Ucn-2 y Ucn-3, péptidos de la familia de la neuromedina, por ejemplo, neuromedina U25 o variantes de corte y empalme, y ANP, BNP, CNP o urodilatina o exendina-4.

25 Más particularmente, las combinaciones de módulos preferidas incluyen aquellas que, como hormonas peptídicas componentes, implican combinaciones de exendina, amilina (y/o sCT), BNP y PYY. Las combinaciones particulares incluyen combinaciones de exendina-4/PYY y PYY/exendina-4, con y sin espaciadores o grupos enlazadores. Otras combinaciones incluyen combinaciones de exendina/amilina y amilina/exendina, con y sin espaciadores o grupos enlazadores. Incluso otras combinaciones incluyen combinaciones de amilina/PYY y PYY/amilina, con o sin espaciadores o grupos enlazadores.

30 En un aspecto, las combinaciones de módulos preferidas incluyen aquellas que implican un primer módulo que comprende exendina-4, un fragmento de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal, o un fragmento de un análogo de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal en combinación con al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo adicional. En una realización, el primer módulo está ligado a uno, dos o tres módulos hormonales peptídicos bioactivos adicionales.

35 En realizaciones preferidas, un primer módulo que comprende un péptido de exendina-4 está ligado a un segundo módulo hormonal peptídico bioactivo que comprende un péptido de amilina (y/o sCT) que presenta al menos una actividad hormonal. En otra realización, el segundo módulo está adicionalmente ligado a un tercer módulo hormonal peptídico bioactivo que comprende un péptido de calcitonina que presenta al menos una actividad hormonal. En otra realización adicional, el tercer módulo puede ligarse adicionalmente a un cuarto módulo hormonal peptídico bioactivo que comprende un potenciador peptídico seleccionado de péptidos de amilina. En una realización, el primer módulo puede localizarse en el extremo C terminal del polipéptido híbrido. Como alternativa, el primer módulo puede localizarse en el extremo N terminal del polipéptido híbrido. En determinadas realizaciones, si se desea, pueden insertarse espaciadores o enlazadores, tales como  $\beta$ Ala, para ligar los módulos.

40 Los péptidos de exendina-4 preferidos incluyen: exendina-4, exendina-4(1-27) (SEC ID N°: 236), exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 237), <sup>14</sup>Leu,<sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 284) y <sup>5</sup>Ala,<sup>14</sup>Leu,<sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 240). También son útiles exendina(7-15) y su análogo Ser2, HSEGTFTSD (SEC ID N°: 378). Los péptidos de amilina preferidos que presentan al menos una actividad hormonal incluyen amilina, fragmentos de amilina, tales como amilina(1-17) (SEC ID N°: 214), amilina(1-16) (SEC ID N°: 215), amilina(1-15) (SEC ID N°: 216) y amilina(1-7) (SEC ID N°: 217) y análogos de amilina tales como pramlintida, <sup>2</sup>Ala-h-amilina (SEC ID N°: 79), <sup>2,7</sup>Ala-h-amilina (SEC ID

Nº: 80) y fragmentos de los mismos. Los péptidos de calcitonina preferidos que presentan al menos una actividad hormonal incluyen sCT, fragmentos de sCT, tales como sCT(8-10), sCT(8-27) (SEC ID Nº: 288), y análogos de calcitonina tales como <sup>11,18</sup>Arg-sCT (SEC ID Nº: 108), <sup>18</sup>Arg-sCT (SEC ID Nº: 107), <sup>14</sup>Glu,<sup>18</sup>Arg-sCT (SEC ID Nº: 109), <sup>14</sup>Glu,<sup>11,18</sup>Arg-sCT (SEC ID Nº: 110) y sus fragmentos. Los potenciadores peptídicos de amilina preferidos incluyen amilina(32-37) (SEC ID Nº: 242), amilina(33-37) (SEC ID Nº: 243) y amilina(34-37) (SEC ID Nº: 244) y análogos de los mismos. Combinaciones de amilina-sCT útiles en relación con la presente invención incluyen las desvelados en el documento PCT/US2005/004631, Amylin Family Agonist, Expediente del Mandatario 18528.835, que se incorpora en el presente documento por referencia. Una quimera de amilina-sCT particularmente útil para crear híbridos de la invención es el Compuesto 10 (descrito en el presente documento y en el documento PCT/US2005/004631) y análogos y derivados del mismo.

En un aspecto, las combinaciones de módulos preferidas incluyen las que implican un primer módulo que comprende exendina-4, un fragmento de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal, y un análogo o derivado de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal, o un fragmento de un análogo de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal en combinación con un potenciador peptídico. Los compuestos preferidos de exendina-4 incluyen: exendina-4, exendina-4(1-27) (SEC ID Nº: 236), exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 237), <sup>14</sup>Leu,<sup>5</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 284), y <sup>5</sup>Ala,<sup>14</sup>Leu,<sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 240). Los potenciadores peptídicos preferidos incluyen: PYY(25-36) (SEC ID Nº: 257), PYY(30-36) (SEC ID Nº: 262) y PYY(31-36) (SEC ID Nº: 263). En una realización, el primer módulo se localiza en el extremo C terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico se localiza en el extremo N-terminal del polipéptido híbrido. Como alternativa, el primer módulo puede localizarse en el extremo N terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico puede localizarse en el extremo C terminal del polipéptido híbrido. En determinadas realizaciones, si se desea, pueden insertarse espaciadores o enlazadores, tales como  $\beta$ Ala, para unir los módulos.

En otro aspecto, las combinaciones de módulos preferidas incluyen las que implican un primer módulo que comprende exendina-4, un fragmento de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal o un fragmento de un análogo de exendina-4 que presenta al menos una actividad hormonal en combinación con un segundo módulo que comprende CCK, un fragmento de CCK que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de CCK que presenta al menos una actividad hormonal o un fragmento de un análogo de CCK que presenta al menos una actividad hormonal. De nuevo, los compuestos de exendina-4 preferidos incluyen: exendina-4, exendina-4(1-27) (SEC ID Nº: 236), exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 237), <sup>14</sup>Leu,<sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 284), <sup>5</sup>Ala,<sup>14</sup>Leu,<sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 240), y <sup>14</sup>Leu-exendina-4(1-28) (SEC ID Nº: 190). Los compuestos de CCK preferidos incluyen: CCK-8 y CCK-8(Phe(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>)). En una realización, el primer módulo se localiza en el extremo C terminal del polipéptido híbrido y el segundo módulo se localiza en el extremo N terminal del polipéptido híbrido. Como alternativa, el primer módulo puede localizarse en el extremo N terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico puede localizarse en el extremo C terminal del polipéptido híbrido. En determinadas realizaciones, si se desea, pueden insertarse espaciadores o enlazadores, tales como  $\beta$ Ala, para unir los módulos.

En otro aspecto, las combinaciones de módulos preferidas incluyen las que implican un primer módulo que comprende amilina, un fragmento de amilina que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de amilina que presenta al menos una actividad hormonal, un fragmento de un análogo de amilina que presenta al menos una actividad hormonal en combinación con un segundo módulo que comprende un potenciador peptídico, tal como PYY(25-36) (SEC ID Nº: 257) o PYY(30-36) (SEC ID Nº: 262). En una realización, el primer módulo se localiza en el extremo C terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico se localiza en el extremo N terminal del polipéptido híbrido. Como alternativa, el primer módulo puede localizarse en el extremo N terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico puede localizarse en el extremo C terminal del polipéptido híbrido. En determinadas realizaciones, si se desea pueden insertarse espaciadores o enlazadores, tales como  $\beta$ Ala, para unir los módulos. En otro aspecto, las combinaciones de módulos preferidas incluyen las que implican un primer módulo que comprende amilina, un fragmento de amilina que presenta al menos una actividad hormonal, un análogo o derivado de amilina que presenta al menos una actividad hormonal, o un fragmento de un análogo de amilina que presenta al menos una actividad hormonal en combinación con un segundo módulo que comprende un potenciador peptídico, tal como PYY(25-36) o PYY(30-36). En una realización, el primer módulo se localiza en el extremo C terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico se localiza en el extremo N terminal del polipéptido híbrido. Como alternativa, el primer módulo puede localizarse en el extremo N terminal del polipéptido híbrido y el potenciador peptídico puede localizarse en el extremo C terminal del polipéptido híbrido. En determinadas realizaciones, si se desea, pueden insertarse espaciadores o enlazadores, tales como  $\beta$ Ala, para unir los módulos.

Otras combinaciones de módulos preferidas incluyen las que implican combinaciones de exendina y CCK o amilina, calcitonina y CCK como una combinación terciaria. Combinaciones particulares incluyen exendina/CCK y CCK/exendina, con y sin espaciadores o enlazadores y grupos enlazadores. Otras combinaciones incluyen CCK/amilina/calcitonina y CCK/amilina/calcitonina/amilina, con y sin espaciadores o grupos enlazadores. Cada módulo puede ser independientemente un potenciador peptídico o puede presentar una actividad hormonal, dependiendo de las propiedades deseadas del polipéptido híbrido. En una realización, la amilina/calcitonina/amilina se proporciona como una quimera de amilina/calcitonina/amilina tal como en el Compuesto 10.

Incluso otras combinaciones de módulos preferidas adicionales incluyen las que implican combinaciones de exendina, amilina y calcitonina como moléculas terciarias y tetrahíbridas. Combinaciones ejemplares incluyen combinaciones de exendina/amilina/calcitonina; exendina/amilina/calcitonina/amilina; amilina/calcitonina/exendina; y amilina/calcitonina/amilina/exendina, con y sin espaciadores o grupos enlazadores. Cada módulo puede ser independientemente un potenciador peptídico o puede presentar una actividad hormonal, dependiendo de las propiedades deseadas del polipéptido híbrido. En una realización se proporciona amilina/calcitonina/amilina como una quimera de amilina/calcitonina/amilina tal como en el Compuesto 10.

En una realización, cuando uno o más de los módulos hormonales peptídicos bioactivos, que presentan al menos una actividad hormonal, es la amilina o un análogo o fragmento de la misma, y un segundo módulo hormonal peptídico bioactivo comprende CCK, entonces el polipéptido híbrido debe comprender preferentemente un tercer módulo hormonal peptídico bioactivo seleccionado de una hormona peptídica componente diferente. Los terceros módulos hormonales peptídicos bioactivos ejemplares incluyen calcitoninas, más preferentemente calcitonina de salmón, análogos o fragmentos de la misma.

En otra realización, cuando uno o más de los módulos hormonales peptídicos bioactivos que presentan al menos una actividad hormonal, es la amilina o un análogo o fragmento de la misma, y un segundo módulo hormonal peptídico bioactivo comprende CT, entonces el polipéptido híbrido debe comprender preferentemente un tercer módulo hormonal peptídico bioactivo seleccionado de una hormona peptídica componente diferente. Los terceros módulos hormonales peptídicos bioactivos ejemplares incluyen exendina-4, análogos o fragmentos de la misma.

En otra realización adicional más, cuando uno o más de los módulos hormonales peptídicos bioactivos que presentan al menos una actividad hormonal, es GLP-1 o un análogo o fragmento del mismo, y un segundo módulo hormonal peptídico bioactivo en un potenciador peptídico que comprende un fragmento de exendina, entonces el polipéptido híbrido debe comprender preferentemente un tercer módulo hormonal peptídico bioactivo. El tercer módulo hormonal peptídico bioactivo ejemplar incluye PYY (incluyendo análogos, derivados y fragmentos de los mismos) y CCK (incluyendo análogos, derivados y fragmentos de los mismos).

Dentro de cada una de las combinaciones descritas en el presente documento, debe entenderse que la referencia a una hormona peptídica componente incluye la referencia a análogos, derivados, fragmentos, así como a potenciadores peptídicos relacionados con los mismos.

En un aspecto preferido, el polipéptido híbrido incluye:

SEC ID N°:	
1	Exendina-4-PYY(22-36)
2	Exendina-4-PYY(25-36)
3	Exendina-4-PYY(18-36)
4	Exendina-4-βAla-βAla-PYY(22-36)
5	Exendina-4-βAla-βAla-PYY(25-36)
6	Exendina-4-βAla-βAla-PYY(31-36)
7	Exendina-4(1-28)-PYY(22-36)
8	Exendina-4(1-28)-PYY(25-36)
9	Exendina-4(1-28)-PYY(18-36)
10	Exendina-4(1-28)- βAla-βAla-PYY(22-36)
11	Exendina-4(1-28)- βAla-βAla-PYY(25-36)
12	Exendina-4(1-28)- βAla-βAla-PYY(31-36)
13	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-Exendina-4(1-28)-PYY(18-36)
14	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-Exendina-4(1-28)-PYY(22-36)
15	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-Exendina-4(1-28)-PYY(25-36)
16	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, Phe-Exendina-4(1-17)-PYY(18-36)
17	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-Exendina-4(1-28)- βAla-βAla -PYY(22-36)
18	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-Exendina-4(1-28)- βAla-βAla-PYY(25-36)
19	<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-Exendina-4(1-28)- βAla-βAla -PYY(31-36)
20	Exendina-4-CCK-8
21	Exendina-4(1-28)-CCK-8
22	Exendina-4(1-28)-CCK-8(Phe(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> ))
23	Exendina-4(1-28)-(8-amino-3,6-dioxooctanoilo)-CCK-8
24	Exendina-4(1-28)-(8-amino-3,6-dioxooctanoilo)-CCK-8(Phe(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> ))
25	Exendina-4(1-27)-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCT(8-27)-Amilina(33-37)
26	Exendina-4(1-27)- <sup>2,7</sup> Ala-hAmilina(1-7)-sCT(8-10)
27	<sup>29</sup> 12 Ado-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
28	<sup>29</sup> 12 Ado-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)

SEC ID N°:	
29	<sup>29</sup> 3,6-dioxooctanoil-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
30	<sup>29</sup> 3,6-dioxooctanoil-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7), <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
31	<sup>29</sup> 5 Apa -Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
32	<sup>29</sup> 5 Apa-Exendina(1-28) - <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
33	<sup>29</sup> βAla-βAla-Exendina(1-28),hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-Amilina(33-37)
34	<sup>29</sup> βAla-βAla-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
35	<sup>29</sup> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
36	<sup>29</sup> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
37	CCK-8-GKR- <sup>15</sup> Glu-hAmilina(1-17)- <sup>18</sup> Arg-sCT(18-26)-Amilina(32-37)
38	Amilina(1-18)-PYY(19-36)
39	isocaproil-STAVL-(Aib)-K(formil)-LSQEL-(Aib)-K(formil)-LQT-PYY(18-36)
40	isocaproil-STAVL-(Aib)-K(formil)-LSQEL-(Aib)-K(formil)-L-PYY(16-36)
41	CCK-8-[Succinoil-Cys]-PYY(3-36)
42	CCK-8-[Bis-Cys(N-Acetil)]-PYY(3-36)
43	CCK-8-[Gly-Aminoximetilcarbonil]-PYY(3-36)
379	Exendina-4(1-27)-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCT(8-27)-Amilina(33-37)
380	<sup>29</sup> 12 Ado-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
381	<sup>29</sup> 12 Ado-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
382	<sup>29</sup> 3,6-dioxooctanoil-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
383	<sup>29</sup> 3,6-dioxooctanoil-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7), <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
384	<sup>29</sup> 5 Apa -Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
385	<sup>29</sup> 5 Apa-Exendina(1-28) - <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
386	<sup>29</sup> βAla-βAla-Exendina(1-28),hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
387	<sup>29</sup> βAla-βAla-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
388	<sup>29</sup> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
389	<sup>29</sup> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-Exendina(1-28)- <sup>1</sup> des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>14</sup> Glu, <sup>11,18</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
390	CCK-8-GKR- <sup>15</sup> Glu-hAmilina(1-17)- <sup>18</sup> Arg-sCT(18-26)-Amilina(32-37)

Los híbridos de exendina y neuromedina ejemplares incluyen  
Exendina-(1-28)-beta-Ala-beta-Ala-FN-38:

- 5 HEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-beta-Ala-beta-Ala-FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 391);

Exendina-(1-28)-beta-Ala-beta-Ala-Neuromedina(U25):

- 10 HEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-beta-Ala-beta-Ala-FRVDEEFQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 392); y

Exendina-(1-28)-beta-Ala-beta-Ala-Neuromedina(U-9):

- 15 HEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-beta-Ala-beta-Ala-GYFLFRPRN-NH2 (SEC ID N°: 393). El espaciador beta-Ala-beta-Ala es opcional, y puede reemplazarse por Gly-Gly-Gly, un grupo mini-PEG, u otro enlazador conocido en la técnica, particularmente los descritos en el presente documento.

20 Los híbridos peptídicos de exendina y natriuréticos ejemplares incluyen híbridos peptídicos de exendina-hBPN, que incluyen

Exendina-(1-28)-beta-Ala-beta-Ala-hBNP:

- 25 HEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-beta-Ala-beta-Ala-SPKMVQSGGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (SEC ID N°: 394); y

Exendina-beta-Ala-beta-Ala-hBNP:

- 30 HEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPS-beta-Ala-beta-Ala-SPKMVQSGGCFGRKMDRISSSSGLGCKVLRRH (SEC ID N°: 395).

Como en todos los híbridos de la divulgación, un espaciador beta-Ala-beta-Ala es opcional, y puede reemplazarse por Gly-Gly-Gly, un grupo mini-PEG, u otro enlazador conocido en la técnica, particularmente los descritos en el presente documento.

5 Los polipéptidos híbridos de la presente invención también pueden comprender modificaciones adicionales que incluyen, pero sin limitación, una sustitución, delección e inserción en la secuencia de aminoácidos de dichos polipéptidos híbridos y cualquier combinación de los mismos. En un aspecto preferido, los polipéptidos híbridos de la invención incluyen una o más modificaciones de un resto de aminoácido "no esencial". En el contexto de la invención, un resto de aminoácido "no esencial" es un resto que puede alterarse, es decir, deleccionarse o sustituirse, en la secuencia de aminoácidos humana nativa del fragmento, por ejemplo, el fragmento hormonal peptídico componente, sin anular o reducir sustancialmente la actividad agonista del receptor hormonal peptídico componente del polipéptido híbrido.

15 Las sustituciones preferidas incluyen sustituciones de aminoácidos conservativas. Una "sustitución de aminoácido conservativa" es una en la que el resto de aminoácido se reemplaza por un resto de aminoácido que tiene una cadena lateral similar, o características fisicoquímicas similares (por ejemplo, rasgos electroestáticos, de unión con hidrógeno, isostéricos, hidrófobos). En la técnica se conocen familias de restos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, metionina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptófano), cadenas laterales  $\beta$  ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

25 La presente invención también se refiere a derivados de los polipéptidos híbridos. Dichos derivados incluyen polipéptidos híbridos conjugados con una o más moléculas poliméricas solubles en agua, tales como polietilenglicol ("PEG") o cadenas de ácidos grasos de diversas longitudes (por ejemplo, estearilo, palmitoilo, octanoilo, etc.), o por la adición de poliaminoácidos, tales como poli-his, poli-arg, poli-lys y poli-ala. Las modificaciones en los polipéptidos híbridos también pueden incluir sustituyentes de molécula pequeña, tales como alquilos cortos y alquilos restringidos (por ejemplo, ramificados, cíclicos, condensados, adamantilo) y grupos aromáticos. Las moléculas poliméricas solubles en agua tendrán preferentemente un peso molecular que varía de aproximadamente 500 a aproximadamente 20.000 Daltons.

35 Dichas conjugaciones poliméricas y modificaciones con sustituyentes de molécula pequeña pueden producirse singularmente en el extremo N o C o en las cadenas laterales de los restos de aminoácidos en la secuencia de los polipéptidos híbridos. Como alternativa, puede haber sitios de derivatización múltiples a lo largo del polipéptido híbrido. La sustitución de uno o más aminoácidos por lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína puede proporcionar sitios de derivatización adicionales. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nos 5.824.784 y 5.824.778. Preferentemente, los polipéptidos híbridos pueden conjugarse con una, dos o tres moléculas poliméricas.

45 Las moléculas poliméricas solubles en agua están ligadas preferentemente a un grupo amino, carboxilo o tiol, y pueden estar ligadas por el extremo N o C, o en las cadenas laterales de lisina, ácido aspártico, ácido glutámico o cisteína. Como alternativa, las moléculas poliméricas solubles en agua pueden ligarse con grupos diamina y dicarboxílico. En una realización preferida, los polipéptidos híbridos de una invención se conjugan con una, dos o tres moléculas de PEG a través de un grupo amino épsilon en un aminoácido de lisina.

50 Los derivados polipeptídicos híbridos de la invención también incluyen polipéptidos híbridos con alteraciones químicas en uno o más restos de aminoácidos. Dichas alteraciones químicas incluyen amidación, glucosilación, acilación, sulfatación, fosforilación, acetilación y ciclación. Las alteraciones químicas pueden producirse singularmente en el extremo N o C o en las cadenas laterales de los restos de aminoácido en la secuencia de los polipéptidos híbridos PPF. En una realización, el extremo C de estos péptidos puede tener un grupo OH o NH<sub>2</sub> libre. En otra realización, el extremo N terminal puede estar protegido con un grupo isobutiloxicarbonilo, un grupo isopropiloxicarbonilo, un grupo *n*-butiloxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, un grupo isocaproilo (isocap), un grupo octanilo, un grupo octil glicina (G(Oct)) o un grupo ácido 8-aminooctánico. En una realización preferida, la ciclación puede ser a través de la formación de puentes disulfuro. Como alternativa, puede haber sitios de alteración química múltiples a lo largo del polipéptido híbrido.

60 En una realización adicional, los híbridos no incluyen ninguno de los híbridos desvelados en el documento WO2005/077072. Por consiguiente en una realización se reivindican nuevos híbridos. En otra realización se reivindican nuevos usos, como se desvela en el presente documento, de cualquiera de los híbridos desvelados en el presente documento, en el documento WO2005/077072, o en cualquier otro. En el Listado de Secuencias se proporcionan Ejemplos de polipéptidos híbridos de la presente invención y también se comentan en la sección de Ejemplos de la misma.

65 Uso de polipéptidos híbridos en el tratamiento o prevención de afecciones o trastornos metabólicos



- 5 Los híbridos de la invención pueden ser útiles para reducir la ingesta de alimento, reducir el apetito, reducir la ingesta calórica, inducir la saciedad, reducir la disponibilidad de nutrientes, causar pérdida de peso, influir en la composición corporal, alterar el contenido energético o el gasto energético del organismo, mejorar el perfil lipídico (incluyendo la reducción de colesterol LDL y de los niveles de triglicéridos y/o cambiar los niveles de colesterol HDL), reducir la motilidad gastrointestinal, retrasar el vaciado gástrico, moderar las oscilaciones de glucemia postprandial, prevenir o inhibir la secreción de glucagón y disminuir la presión arterial. En una realización dichos híbridos contienen una parte de exendina, GLP1, amilina y/o sCT.
- 10 Por tanto, en determinadas realizaciones, los híbridos de la invención son útiles para tratar o prevenir afecciones o trastornos que pueden aliviarse reduciendo la disponibilidad de nutrientes, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención. Dichos trastornos y afecciones incluyen, pero sin limitación, trastornos de la alimentación, insulinoresistencia, obesidad, hiperglucemia postprandial anómala, diabetes de cualquier tipo, incluyendo diabetes de Tipo I, de Tipo II y gestacional, Síndrome Metabólico,
- 15 Síndrome de Vaciado Gástrico Rápido (*Dumping*), hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemia, apnea del sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colecistitis y osteoartritis. En una realización, dichos híbridos contienen una parte de exendina, GLP1, amilina y/o sCT.
- 20 Los pares de módulos peptídicos ejemplares incluyen péptidos cardioactivos/protectores, por ejemplo, una urocortina con un GLP-1 o exendina, un ANP, BNP o CNP con un GLP-1 o exendina, y una urocortina con un ANP, BNP o CNP. Dichos híbridos serán cardioprotectores y particularmente útiles para las enfermedades y afecciones indicadas descritas en el presente documento, que incluyen ICC aguda o crónica, isquemia - reperfusión, infarto de miocardio, y para acciones vasodilatadoras útiles para tratar o prevenir síntomas antihipertensivos y angina de pecho. La Ucn 2 y 3 son particularmente útiles en los híbridos de la invención.
- 25 Son ejemplos no limitantes de una afección o enfermedad cardiovascular la hipertensión, la isquemia del miocardio y la reperfusión del miocardio. Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de otras afecciones asociadas con obesidad que incluyen ictus, cáncer (por ejemplo, cáncer endometrial, de mama, de próstata y de colon), enfermedad de la vesícula biliar, apnea del sueño, fertilidad reducida y osteoartritis (véase Lyznicki *et al*, Am. Fam. Phys. 63: 2185, 2001). En otras realizaciones, los compuestos de la invención pueden usarse para alterar la composición corporal por razones estéticas, para potenciar una capacidad física o para producir una fuente cárnica sin grasa. Los híbridos son útiles para cambiar la composición corporal disminuyendo la grasa sin disminuir de manera significativa la masa muscular, produciendo de este modo una pérdida de grasa corporal deseable conservando al mismo tiempo la masa corporal magra. En una realización
- 30 dichos híbridos contienen una parte de exendina, GLP1, amilina y/o sCT.
- 35 En otro aspecto general, los híbridos de la invención pueden usarse para inhibir la secreción de ghrelina. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden utilizar este mecanismo para tratar o prevenir trastornos relacionados con ghrelina, tales como el síndrome de Prader-Willi, la diabetes de todos los tipos y sus complicaciones, la obesidad, hiperfagia, hiperlipidemia, u otros trastornos asociados con hipernutrición. En una realización dichos híbridos contienen una parte de exendina, GLP1, amilina y/o sCT.
- 40 En otro aspecto general, ahora se reconoce que los híbridos que contienen partes de amilina y/o sCT pueden ser útiles para el tratamiento o prevención del esófago de Barrett, Enfermedad de Reflujo Gastroesofágico (ERGE) y afecciones asociadas con la misma. Dichas afecciones pueden incluir, pero sin limitación, pirosis, pirosis acompañada por regurgitación de contenido gástrico/intestinal en la boca o los pulmones, deglución dificultosa, tos, sibilancia intermitente e inflamación de las cuerdas vocales (afecciones asociadas con ERGE), erosión esofágica, úlcera esofágica, estenosis esofágica, metaplasia de Barrett (reemplazo de epitelio normal esofágico por epitelio anómalo), adenocarcinoma de Barrett y aspiración pulmonar. Dichos híbridos tienen propiedades antisecretoras, tales como inhibición de ácidos gástricos, inhibición de ácidos biliares e inhibición de enzimas pancreáticas. Además, dichos híbridos pueden tener un efecto gastroprotector, que los hace particularmente útiles en el tratamiento o prevención del esófago de Barrett y/o ERGE y afecciones relacionadas o asociadas como se describe en el presente documento.
- 45 En otro aspecto general, los híbridos pueden ser adicionalmente útiles para el tratamiento o la prevención de pancreatitis, carcinoma pancreático y gastritis, particularmente en el tratamiento y prevención de pancreatitis en pacientes que se han sometido a colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE). Los agonistas híbridos que contienen amilina y/o sCT pueden tener un efecto terapéutico sorprendentemente superior cuando se combinan con somatostatina. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, los métodos para tratar o prevenir la
- 50 pancreatitis comprenden administrar al sujeto dichos híbridos y administrar somatostatina y agonistas de somatostatina.
- 55 En otro aspecto general, los híbridos son útiles para disminuir la reabsorción ósea, disminuir el calcio en plasma e inducir un efecto analgésico, particularmente para tratar trastornos óseos tales como osteopenia y osteoporosis. En otras realizaciones adicionales, los híbridos son útiles para tratar el dolor y la neuropatía dolorosa. En una realización dichos híbridos contienen una parte de exendina, GLP1, amilina y/o sCT.
- 60

En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para el tratamiento o la prevención de la obesidad, en el que el método comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un polipéptido híbrido. En una realización preferida, el sujeto es un sujeto obeso o con sobrepeso. Aunque generalmente la "obesidad" se define como un índice de masa corporal superior a 30, para los fines de esta divulgación, cualquier sujeto, incluyendo los que presenten un índice de masa corporal menor de 30, que necesite o desee reducir su peso corporal, se incluye en la definición de "obeso". Los sujetos que son insulinoresistentes, intolerantes a la glucosa o que tienen cualquier forma de diabetes mellitus (por ejemplo, diabetes de tipo 1, 2 o gestacional) pueden beneficiarse de estos híbridos. En una realización dichos híbridos contienen una parte de exendina, PYY, GLP1, amilina y/o sCT.

En otra realización adicional se proporciona un método para reducir el peso en un sujeto mórbidamente obeso para reducir primero el peso del sujeto a un nivel por debajo del mórbidamente obeso, administrando después al sujeto una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir adicionalmente el peso del sujeto. Los métodos para reducir el peso de un sujeto por debajo del de la obesidad mórbida incluyen la reducción de la ingesta de calorías, el aumento de la actividad física, la terapia con fármacos, la cirugía bariátrica, tal como cirugía de puente gástrico, o cualquier combinación de los métodos anteriores. En un aspecto, la administración de la combinación de agentes antiobesidad reduce adicionalmente el peso del sujeto. En otra realización, se proporcionan métodos para reducir el índice de masa corporal en un sujeto que tiene un índice de masa corporal de 40 o menor administrando una combinación de agentes antiobesidad en cantidades eficaces para reducir adicionalmente el peso del sujeto.

La reducción de peso significa que el sujeto pierde una parte de su peso corporal total durante el ciclo del tratamiento, ya sea la duración del ciclo de tratamiento de días, semanas, meses o años. Como alternativa, la reducción de peso puede definirse como una disminución en la proporción de masa grasa con respecto a masa magra (en otras palabras, el sujeto pierde masa grasa, pero conserva o aumenta su masa magra, sin necesariamente una pérdida correspondiente de peso corporal total). En esta realización, una cantidad eficaz de los agentes antiobesidad administrada en combinación, es una cantidad eficaz para reducir el peso corporal del sujeto durante el ciclo del tratamiento, o como alternativa, una cantidad eficaz para reducir el porcentaje de masa grasa del sujeto durante el ciclo del tratamiento. En determinadas realizaciones, la reducción de peso corporal del sujeto durante el ciclo del tratamiento, es de al menos aproximadamente 1 %, al menos aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 15 %, o al menos aproximadamente 20 %. Como alternativa, durante el ciclo del tratamiento, el porcentaje de masa grasa del sujeto se reduce, al menos el 1 %, al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 15 %, al menos el 20 %, o al menos el 25 %.

En otros aspectos de la divulgación, se proporcionan métodos para reducir la ingesta de alimento, reducir la disponibilidad de nutrientes, causar la pérdida de peso, influir en la composición corporal y alterar el contenido energético o aumentar el gasto energético corporal, tratar diabetes mellitus y mejorar el perfil lipídico (incluyendo la reducción de colesterol LDL y los niveles de triglicéridos y/o cambiar los niveles de colesterol HDL), comprendiendo los métodos administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un polipéptido híbrido de la invención. En una realización preferida, los métodos de la divulgación se usan para tratar o prevenir afecciones o trastornos que pueden aliviarse reduciendo la disponibilidad de nutrientes en un sujeto que lo necesite, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un polipéptido híbrido de la invención. Dichas afecciones y trastornos incluyen, pero sin limitación, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, trastornos de alimentación, insulinoresistencia, obesidad y diabetes mellitus de cualquier tipo. En una realización, dichos híbridos contienen una parte de exendina, PYY, GLP1, amilina y/o sCT.

Sin pretender limitarse a la teoría, se piensa que los efectos de los polipéptidos híbridos de la presente invención, administrados por vía periférica, en la reducción de la ingesta de alimento, en el retraso del vaciado gástrico, en la reducción de la disponibilidad de nutrientes y en ocasionar pérdida de peso, se determinan mediante interacciones con una o más clases de receptores únicos en, o similares a los de, la familia de PP. Más particularmente, parece que intervienen uno o más receptores similares a los receptores preferentes de PYY (o Y7).

De particular interés como híbridos contra la obesidad, reducción de alimento, aumento de la tasa metabólica y reducción de grasa corporal y/o redistribución de grasa son los que tienen al menos uno, preferentemente dos componentes, que actúan sobre el SNC. Se han identificado áreas particulares del prosencéfalo (constituyentes telencefálicos y diencefálicos derivados del cerebro) y del rombencéfalo o tronco cerebral (incluyendo el mesencéfalo, el puente y la médula) como que están implicadas en el control del equilibrio energético. Las estructuras prosencefálicas o núcleos que residen en el hipotálamo implicados en la ingesta de alimento y/o en la modulación de peso corporal incluyen, por ejemplo, el núcleo arqueado (ARC), el núcleo paraventricular (PVN), el hipotálamo dorsomedial (DMH), el núcleo ventromedial (VMH) y el núcleo hipotalámico lateral (LHA). Las estructuras rombencefálicas o núcleos que residen en el tronco cerebral implicados en la ingesta de alimento y/o en la modulación de peso corporal incluyen, por ejemplo, el núcleo del tracto solitario (NST), el área postrema (AP), y el núcleo parabránquial lateral (IPBN). Los núcleos del tronco cerebral que controlan los elementos del sistema de control motor consumidor están probablemente controlados por proyecciones de orden primario o secundario de

regiones del tronco cerebral como el NST, el AP y el IPBN. Cabe destacar que el AP, el NST y el IPBN han demostrado poseer (en su conjunto e independientemente) sus propias habilidades integrativas.

Una variedad de agentes antiobesidad dirigidos al SNC actúan sobre estas estructuras prosencefálicas que residen en el hipotálamo implicadas en la modulación de la ingesta de alimento y/o peso corporal. Además, los agentes antiobesidad dirigidos al SNC actúan sobre estructuras rombencefálicas que residen en el tronco cerebral implicadas en una modulación de la ingesta de alimento y/o peso corporal. En el presente documento se describen ejemplos de dichos agentes antiobesidad. Véase la tabla a continuación para ejemplos adicionales de módulos de la familia de péptidos que pueden combinarse para formar un híbrido como agente antiobesidad y que pueden combinarse para formar un híbrido antiobesidad con actividad sobre tanto en el prosencéfalo como en el rombencéfalo. Dichos componentes incluyen, por ejemplo, antagonistas de receptores del neuropéptido Y1 (NPY1), antagonistas del receptor del NPY5, leptina y agonistas de leptina, el factor neurotrófico ciliar (CNTF) y agonistas del CNTF, el péptido YY (PYY) y agonistas del PYY, exendina y agonistas de exendina, GLP-1 y agonistas de GLP-1, ghrelina y antagonistas de ghrelina, colecistoquinina (CCK) y agonistas de CCK, y amilina y agonistas de amilina, incluyendo los descritos en el presente documento. Adicionalmente los componentes de la familia de péptidos y orientaciones clínicas pueden encontrarse en la solicitud de patente relacionada PCT/US06/17529 del solicitante.

Dianas individuales antiobesidad y localización

Sistema de señalización	Región del SNC	Función sobre la Ingesta de Alimento	Agentes anti obesidad
Neuropéptido Y (NPY)	Prosencéfalo (ARC/PVN)	Aumenta la ingesta	NPY1 y antagonistas del receptor de NPY5
Leptina	Prosencéfalo (ARC)	Disminuye la ingesta	Leptina, o agonistas
Factor neurotrófico ciliar (CNTF)	Prosencéfalo (ARC)	Disminuye la ingesta	CNTF
Péptido YY (PYY)	Prosencéfalo (ARC)	Disminuye la ingesta	Agonistas de PYY(3-36)
Péptido 1 similar a glucagón (GLP-1)	Prosencéfalo (PVN)	Disminuye la ingesta	Exenatida y otros ligandos de GLP-1, inhibidores de DPP-IV
Ghrelina	Prosencéfalo (ARC)	Aumenta la ingesta	Antagonistas de Ghrelina
Colecistoquinina (CCK)	Rombencéfalo (AP)	Disminuye la ingesta	Agonistas de CCK
Amilina	Rombencéfalo (AP)	Disminuye la ingesta	Agonistas de amilina, pramlintida, análogos de amilina
Melanocortinas (MC)	Prosencéfalo (PVN/ARC)	Disminución de ingesta por agonistas	Agonistas de MC4

En determinadas realizaciones, el híbrido es un agente antiobesidad que puede incluir uno o más componentes de la familia de péptidos que actúan más predominantemente en el prosencéfalo. En otras realizaciones, el híbrido es un agente antiobesidad que puede incluir uno o más agentes antiobesidad que actúan predominantemente en el rombencéfalo. Las familias ejemplares de péptidos y componentes son un antagonista del receptor de NPY1, un antagonista del receptor de NPY5, una leptina o un agonista o análogo de leptina, un CNTF, un agonista del receptor de NPY2 (por ejemplo, un PYY(3-36) o un agonista de PYY(3-36)), una exendina o un agonista o análogo de exendina, un GLP-1 o un agonista o análogo de GLP-1, un antagonista de ghrelina, una CCK o un agonista o análogo de CCK y una amilina o un agonista o análogo de amilina.

En determinadas realizaciones, el híbrido y el método para su uso incluyen un primer componente que se dirige predominantemente a los centros de equilibrio de energía del hipotálamo, tal como el ARC, PVN, VM y LH. En una realización, el híbrido contiene uno o más componentes distintos de la familia de péptidos que también se dirige al hipotálamo pero a una localización diferente o mediante un mecanismo de acción diferente al del primer componente. Cuando el híbrido contiene más de un componente distinto de la familia de péptidos y este también se dirige al hipotálamo, el más de un componente distinto de la familia de péptidos puede dirigirse a la misma localización mediante el mismo mecanismo de acción que cada uno de los otros, o puede dirigirse a diferentes localizaciones y/o por diferentes mecanismos de acción. En otra realización, el híbrido contiene por tanto uno o más componentes distintos de la familia de péptidos que proporciona uno o más efectos terapéuticos beneficiosos adicionales, según se desee, incluyendo un efecto antiobesidad, mediante una localización o mecanismo de acción diferente al del primer componente y entre sí, control de la glucemia, cardioprotección y/o control de la hipertensión. En determinadas realizaciones, el componente de la familia de péptidos adicional es uno que se dirige predominantemente a los centros de equilibrio de energía del rombencéfalo tal como el NST, el AP y el IPBN.

En determinadas realizaciones, el híbrido y el método para su uso incluyen un primer componente que se dirige predominantemente a los centros de equilibrio de energía del rombencéfalo tal como el NST, el AP y el IPBN. En

una realización, el híbrido contiene uno o más componentes distintos de la familia de péptidos que también se dirigen al hipotálamo pero a una localización diferente o mediante un mecanismo de acción diferente al del primer componente y entre sí. En otra realización, el híbrido contiene por tanto uno o más componentes distintos de la familia de péptidos que proporciona uno o más efectos terapéuticos beneficiosos adicionales, según se desee, incluyendo un efecto antiobesidad mediante una localización o mecanismo de acción diferente al del primer componente y entre sí, control de la glucemia, cardioprotección y/o control de la hipertensión. En determinadas realizaciones, el componente de la familia de péptidos adicional es uno que dirige predominantemente a los centros de equilibrio de energía del hipotálamo, tal como el ARC, PVN, VM y LH.

Como de usa en el presente documento, un agente antiobesidad que “actúa sobre una estructura prosencefálica implicada en la modulación de la ingesta de alimento y/o peso corporal”, estimula o suprime la actividad de una región particular, por ejemplo, núcleos y/o circuitos neuronales particulares, en el prosencefalo. Esta estimulación o supresión prosencefálica conduce a una reducción en la disponibilidad de nutrientes en el organismo. Un agente antiobesidad que “actúa sobre una estructura rombencefálica implicada en la modulación de la ingesta de alimento y/o peso corporal”, estimula o suprime la actividad de una región particular, por ejemplo, núcleos y/o circuitos neuronales particulares en el rombencefalo. Esta estimulación o supresión rombencefálica da como resultado una reducción en la disponibilidad de nutrientes en el organismo.

En otro aspecto, se proporcionan métodos para reducir la masa grasa aumentando la tasa metabólica en un sujeto, comprendiendo los métodos administrar un híbrido antiobesidad en cantidades eficaces para reducir la masa grasa aumentando la tasa metabólica del sujeto. La masa grasa puede expresarse como un porcentaje de la masa corporal total. En algunos aspectos, la masa grasa se reduce al menos 1 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 % o al menos 25 % durante el ciclo del tratamiento. En un aspecto, la masa magra del sujeto no disminuye a lo largo del ciclo del tratamiento. En otro aspecto, la masa magra del sujeto se mantiene o aumenta durante el ciclo del tratamiento. En otro aspecto, el sujeto tiene una dieta reducida en calorías o una dieta restringida. Por “dieta reducida en calorías” se entiende que el sujeto ingiere menos calorías al día en comparación con la dieta normal del mismo sujeto. En un ejemplo, el sujeto consume al menos 50 calorías menos al día. En otros casos, el sujeto consume al menos 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1000 calorías menos al día.

En una realización, se proporcionan métodos para su uso en la alteración de la distribución de grasa, reducción de masa grasa o ambas cosas. Por consiguiente, los sujetos para los que la alteración de la composición corporal es beneficiosa también pueden beneficiarse de los métodos de la presente invención. La composición corporal alterada, como se entiende en el presente documento, incluye la pérdida o mantenimiento de grasa corporal, con minimización de pérdida, mantenimiento o ganancia de masa corporal magra. En dichas situaciones, el peso puede aumentar así como disminuir. Por consiguiente, los sujetos pueden ser delgados, pueden tener sobrepeso, o ser obesos, según se usan generalmente estos términos en la técnica. Los métodos proporcionados también pueden incluir reducción de grasa en tejido no adiposo a pesar de que una escasa masa magra. Los usos de este método incluyen el tratamiento de enfermedades tales como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) o lipodistrofia.

En una realización, se proporciona un método para alterar la distribución de grasas en un sujeto, comprendiendo el método administrar un híbrido antiobesidad en cantidades eficaces para alterar la distribución de grasas en el sujeto. En un aspecto, la alteración es el resultado de un metabolismo aumentado de grasa visceral o ectópica, o de ambas, en el sujeto. Por “distribución de grasas” se entiende la localización de depósitos de grasa en el organismo. Dichas localizaciones de depósitos de grasa incluyen, por ejemplo, depósitos de grasa subcutánea, visceral y ectópica. Por “grasa subcutánea” se entiende el depósito de lípidos que hay justo debajo de la superficie de la piel. La cantidad de grasa subcutánea en un sujeto puede medirse usando cualquier método disponible para medir la grasa subcutánea. En la técnica se conocen métodos para medir la grasa subcutánea, por ejemplo, los descritos en la Patente de Estados Unidos N° 6.530.886.

Por “almacenamiento de grasa ectópica” se entiende depósitos lipídicos dentro y alrededor de tejidos y órganos que constituyen la masa corporal magra (por ejemplo, músculo esquelético, corazón, hígado, páncreas, riñones, vasos sanguíneos). Generalmente, el almacenamiento de grasa ectópica es una acumulación de lípidos fuera de los depósitos de tejido adiposo clásicos en el organismo. Por “grasa visceral” se entiende el depósito de grasa como tejido adiposo intraabdominal. La grasa visceral rodea los órganos vitales y puede metabolizarla el hígado para producir colesterolemia. La grasa visceral se ha asociado con un riesgo aumentado de afecciones tal como síndrome del ovario poliquístico, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. En algunas realizaciones, el método implica el metabolismo de grasa visceral o ectópica, o ambas, a una tasa de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 % o 50 % mayor que para la grasa subcutánea. En un aspecto, los métodos dan como resultado una distribución de grasas favorable. En una realización, la distribución de grasas favorable es una proporción aumentada de grasa subcutánea con respecto a grasa visceral, grasa ectópica o ambas. En un aspecto, el método implica un aumento de la masa corporal magra, por ejemplo, como resultado de un aumento de la masa de células musculares.

En otra realización, se proporcionan métodos para reducir la cantidad de grasa subcutánea en un sujeto, en el que el método comprende administrar, a un sujeto que lo necesite, un híbrido antiobesidad en cantidades eficaces para

reducir la cantidad de grasa subcutánea en el sujeto. En un caso, la cantidad de grasa subcutánea se reduce en un sujeto al menos aproximadamente un 5 %. En otros casos, la cantidad de grasa subcutánea se reduce al menos aproximadamente un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % 40 % o 50 % en comparación con el sujeto antes de la administración del híbrido antiobesidad.

5 Los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para reducir la cantidad de grasa visceral en un sujeto. En un caso, la grasa visceral se reduce en un sujeto al menos aproximadamente un 5 %. En otros casos, la grasa visceral se reduce en el sujeto al menos aproximadamente un 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % 40 % o 50 % en comparación con el sujeto antes de la administración del híbrido antiobesidad. La grasa visceral puede medirse con cualquier medio disponible para determinar la cantidad de grasa visceral en un sujeto. Dichos métodos incluyen, por ejemplo, tomografía abdominal mediante tomografía axial computerizada (CT) o imagen por resonancia magnética nuclear (MRI). Otros métodos para determinar la grasa visceral se describen, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos N° 6.864.415, 6.850.797 y 6.487.445.

15 En una realización, se proporciona un método para prevenir la acumulación de grasa ectópica o reducir la cantidad de grasa ectópica en un sujeto, en el que el método comprende administrar, a un sujeto que lo necesite, un híbrido antiobesidad en cantidades eficaces para prevenir la acumulación de grasa ectópica o para reducir la cantidad de grasa ectópica en el sujeto. En un caso, la cantidad de grasa ectópica se reduce en un sujeto al menos aproximadamente un 5 % en comparación con el sujeto antes de la administración del híbrido antiobesidad. En otros casos, la cantidad de grasa ectópica se reduce en un sujeto al menos aproximadamente un 10 %, o al menos aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 % 40 % o 50 %. Como alternativa, la cantidad de grasa ectópica se reduce proporcionalmente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en comparación con la grasa subcutánea en un sujeto. La grasa ectópica puede medirse en un sujeto usando cualquier método disponible para medir grasa ectópica.

25 En otra realización, se proporcionan métodos para producir una distribución de grasas más favorable en un sujeto, en el que el método comprende administrar a un sujeto un híbrido que sea eficaz como un agente antiobesidad en una cantidad eficaz para producir una distribución de grasas favorable. En una realización, la administración de un híbrido antiobesidad reduce la cantidad de grasa visceral o grasa ectópica, o ambas, en un sujeto. En una realización se administra un híbrido antiobesidad que comprende al menos un módulo de una familia que actúa sobre estructuras prosencefálicas implicadas en la modulación de la ingesta de alimento o peso corporal, o ambas, en combinación con al menos un módulo de una familia que actúa sobre estructuras rombencefálicas implicadas en la modulación de la ingesta de alimento o peso corporal, o ambas. En una realización, los métodos reducen preferentemente la cantidad de grasa visceral o ectópica, o una combinación de ambas, sobre la reducción de grasa subcutánea. Dichos métodos dan como resultado una mayor proporción de grasa subcutánea con respecto a grasa visceral o grasa ectópica. Dichas proporciones mejoradas pueden dar como resultado un riesgo reducido del desarrollo de enfermedades cardiovasculares, síndrome del ovario poliquístico, síndrome metabólico, o cualquiera de las combinaciones de los mismos. En una realización, la grasa ectópica o visceral se metaboliza a una tasa mayor del 5 % que la grasa subcutánea. En otras realizaciones, la grasa ectópica o visceral se metaboliza a una tasa mayor de al menos 10 % 15 %, 20 %, 25 %, 30 % 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % que la grasa subcutánea.

45 De particular interés para los tratamientos relacionados con la antiobesidad, peso corporal y composición de grasas, como se analiza en el presente documento, son los híbridos que contienen módulos de la familia de la amilina (por ejemplo, una quimera de amilina-sCT-amilina), leptina y/o PPF (por ejemplo, análogos de PYY o una quimera de PPY/NPY). Por ejemplo, un módulo de la familia de la amilina puede unirse a un módulo de la familia de la leptina y administrarse en solitario, o en una realización adicional, administrarse en combinación (por ejemplo, por separado o mezclados entre sí) con un compuesto de la familia de PPF. En otra realización, el híbrido contiene una combinación de leptina-PPF que se administra en solitario o en combinación con un compuesto de la familia de la amilina. En otra realización, el híbrido contiene una combinación de amilina-PPF que se administra en solitario o en combinación con un compuesto de la familia de la leptina. Incluso en otra realización adicional un híbrido contiene los módulos de las tres familias de péptidos. Por ejemplo, puede proporcionarse un híbrido de amilina-PPF en una solución estéril, farmacéuticamente aceptable, que después se use para disolver un compuesto de la familia de la leptina liofilizado o en polvo, como en un sistema de administración de doble cámara.

55 En otro aspecto aún, se proporciona un método para la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un híbrido eficaz como un agente antiobesidad administrado en combinación con glucocorticosteroides. Los glucocorticosteroides tienen el efecto adverso de aumentar la masa grasa y disminuir la masa magra. Por consiguiente, se contempla que la combinación con el agente antiobesidad pueda usarse junto con glucocorticosteroides en condiciones en las que el uso de los glucocorticosteroides es beneficioso para contrarrestar el efecto adverso del glucocorticoesteroide.

65 Adicionalmente, en cuanto a la hipolipemia, los híbridos de la invención se usan para disminuir los niveles de lípidos en sangre, tales como, los triglicéridos, el colesterol total, el colesterol LDL y el colesterol VLDL, y proporcionan un perfil lipídico más beneficioso en sujetos que requieren dicho tratamiento. Por consiguiente, en una realización se proporciona un método para disminuir en sangre los triglicéridos, el colesterol total, el colesterol LDL, el colesterol

VLDL o cualquier combinación de los mismos, que comprende administrar al sujeto que lo necesite un híbrido hipolipemiante. En una realización adicional, el híbrido hipolipemiante puede contener un componente de la familia de la exendina (incretina), un componente de la familia de la amilina, un componente de la familia de PPF o PYY (NPY) o con cualquier combinación de los mismos. En una realización del método, el lípido a reducir son triglicéridos en plasma. En otra es colesterol total en plasma. En otra es colesterol LDL. En otra es colesterol VLDL. El híbrido puede mantener o reducir, de un modo agudo y/o crónico eficaz, los niveles de lípidos en ayunas y/o reducir las oscilaciones lipídicas postprandiales (particularmente triglicéridos). El paciente que necesite dicho tratamiento puede tener niveles de triglicéridos elevados, colesterol LDL elevado, colesterol VLDL elevado o cualquier combinación de los mismos. Dichos pacientes pueden incluir aquellos que, de otra manera, parecen normales, tienen diabetes o son prediabéticos, tienen obesidad, tienen una enfermedad o afección relacionada con lípidos, tal como dislipidemia, hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia, y/o que tienen una enfermedad cardiovascular. Este efecto de los híbridos es beneficioso en la reducción del riesgo cardiaco y aterosclerótico en pacientes de alto riesgo, por ejemplo, aquellos que están genéticamente predispuestos, que son obesos, diabéticos etc. Por tanto, el paciente puede ser un paciente que padece aterosclerosis con niveles de lípidos o colesterol elevados. El presente método proporciona un método para reducir las oscilaciones de triglicéridos postprandiales, reducir los niveles de lípidos en la circulación, tratar la dislipidemia, mejorar el perfil lipídico en la circulación, tratar la hipertrigliceridemia, tratar la hipercolesterolemia, y/o reducir las concentraciones de triglicéridos postprandiales en un sujeto, que comprende administrar, al sujeto que necesite dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un híbrido de la invención. Como se usa en el presente documento, "perfil lipídico" significa el equilibrio, la proporción o la concentración real de lípidos en la circulación, incluyendo niveles de triglicéridos, LDL, HDL, colesterol, etc. En un aspecto preferido, los métodos de la divulgación son útiles para disminuir los niveles de triglicéridos en un paciente, que comprenden administrar una cantidad eficaz de una amilina o agonista de amilina. Los niveles globales de lípidos o triglicéridos pueden reducirse con este método, por ejemplo, niveles en ayunas, niveles máximos postprandiales y oscilaciones del nivel global de lípidos/triglicéridos postprandiales (por ejemplo, medido por el área bajo la curva (ABC) del aumento de triglicéridos postprandiales en comparación con el aumento en un estado no tratado con un agonista de amilina). Las mediciones individuales clínicamente relevantes, tales como los niveles de lípidos en ayunas (incluyendo triglicéridos, colesterol, HDL y LDL, etc.) y los niveles lipídicos postprandiales (por ejemplo, triglicéridos) también se reducen con los métodos de la invención. Los pacientes que tienen dislipidemia o niveles lipídicos alterados en comparación con los normales, pueden tratarse con la administración de amilina o de agonistas de amilina. Los pacientes diabéticos y obesos, así como los que están genéticamente predispuestos a dislipidemia o a enfermedad cardiovascular, son particularmente idóneos para recibir tratamiento con los métodos de la invención. Como se usa en el presente documento, "tratar niveles de triglicéridos elevados en un paciente" significa prevenir un aumento en aquellos niveles o causar una reducción en aquellos niveles con respecto al nivel antes del tratamiento. Como se usa en el presente documento, "reducir las oscilaciones de triglicéridos postprandiales" significa reducir tanto la concentración máxima como el área bajo la curva de la concentración de triglicéridos total que se observa en pacientes después una comida. Esto significará típicamente disminuir el área bajo la curva total de un gráfico tal como el proporcionado en las figuras 2-4 una hora después de una comida. Como se usa en el presente documento "reducir los niveles de lípidos en circulación" en un paciente significa disminuir la cantidad medible de lípidos en sangre con respecto al nivel antes del tratamiento. Como se usa en el presente documento, "tratar la dislipidemia" significa mejorar o reestablecer a un nivel, la proporción, perfil o equilibrio más próximo al medicamento definido como normal y/o sano de cualquiera o de todos los parámetros lipídicos o lipoproteicos clínicamente medibles. Esto incluye, pero sin limitación, niveles de triglicéridos, LDL, HDL, IDL, VLDL, colesterol total, apolipoproteínas, etc. Como se usa en el presente documento, "mejorar el perfil lípido en circulación en un paciente" significa producir un cambio en la concentración de uno o más lípidos encontrados en la sangre para cambiar el contenido de lípidos en sangre total del paciente a un estado preferido. Esto puede incluir también modificar la distribución de lípidos sobre distintas fracciones de lipoproteínas, sin cambiar el contenido/concentración global de los lípidos en circulación. Como se usa en el presente documento, "tratamiento de la hipertrigliceridemia" en un paciente significa causar una disminución en la concentración de triglicéridos encontrada en la sangre de un paciente a uno o más tiempos relevantes, por ejemplo, en ayunas o postprandial. Como se usa en el presente documento, "reducir los triglicéridos postprandiales en la circulación" en un paciente" significa disminuir la cantidad medible de triglicéridos en la circulación después de una comida (por ejemplo, en el período de aproximadamente 4-6 horas después de la comida) con respecto al nivel de dichos lípidos observado postprandialmente en el paciente antes o sin tratamiento para una comida similar.

Los híbridos y las quimeras de PYY de la divulgación pueden usarse con otros fármacos hipolipemiantes. Los fármacos hipolipemiantes incluyen cualquier compuesto que pueda reducir los niveles lipídicos en plasma. Los fármacos hipolipemiantes ejemplares incluyen, pero sin limitación, una estatina, tal como atorvastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina, fluvastatina, cerivastatina, o rosuvastatina; un aglutinante de ácidos biliares tal como colestiramina o colestipol; un agonista de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) tal como tesaglitazar, Vitamina E; un inhibidor de proteínas de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) tal como ezetimibe, JTT-705 y Torcetrapib.

Ensayos adicionales útiles para la invención incluyen los que pueden determinar el efecto de los compuestos híbridos sobre la composición corporal. Un ensayo ejemplar puede ser uno que implique la utilización de un modelo de ratón obeso inducido con dieta (OID) para enfermedades metabólicas. Antes del período de tratamiento, ratones macho C57BL/6J pueden alimentarse con una dieta con alto contenido en grasa (Nº D12331, 58 % de calorías de grasa; Research Diets, Inc.) durante 6 semanas comenzando a las 4 semanas de vida. Durante el estudio, los

ratones pueden continuar alimentándose con la dieta de alto contenido en grasa. Puede proporcionarse agua a voluntad durante todo el estudio. Un grupo de ratones no obesos de edad similar puede alimentarse con una dieta con bajo contenido en grasa (Nº D12329, 11 % de calorías de grasa) con la intención de comparar parámetros metabólicos con los grupos OID.

5 A los ratones OID se les puede implantar bombas osmóticas subcutáneas (SC) intraescapulares para administrar o vehículo (dimetilsulfóxido (DMSO) al 50 % en agua) o un compuesto de la invención. Las bombas del último grupo pueden ajustarse para suministrar cualquier cantidad, por ejemplo, 1000 µg/kg/día de un compuesto de la invención durante 7-28 días.

10 Los pesos corporales y la ingesta de alimento pueden medirse durante intervalos regulares a lo largo de los periodos del estudio. El cociente respiratorio (CR, definido como la producción de CO<sub>2</sub> ÷ consumo de O<sub>2</sub>) y la tasa metabólica pueden determinarse usando calorimetría indirecta de todo el animal (Oxymax, Columbus Instruments, Columbus, OH). Los ratones pueden someterse a eutanasia con una sobredosis de isoflurano, y se mide un índice de adiposidad (peso de páncreo adiposo epididimal bilateral). Además, antes de la determinación del peso epididimal, la composición corporal (masa magra, masa grasa) de cada ratón puede analizarse usando un instrumento de Absorciometría de rayos X de Doble Energía (DEXA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Lunar Piximus, GE Imaging System). En los métodos de la divulgación, el polipéptido híbrido preferido de la invención es aquel que, en uno de los ensayos descritos en el presente documento (preferentemente, ensayos de ingesta de alimento, vaciado gástrico, secreción pancreática, reducción de peso o de composición corporal) tiene una fuerza que es mayor que la fuerza de una hormona peptídica componente en ese mismo ensayo.

Además de mejorar la hipertensión en sujetos que lo necesiten como resultado de una ingesta de alimento reducida, pérdida de peso o tratamiento de la obesidad, los compuestos de la invención pueden usarse para tratar la hipotensión.

25 Los compuestos de la invención también pueden ser útiles para potenciar, inducir, mejorar o reestablecer la sensibilidad a la glucosa en las células pancreáticas o en los islotes pancreáticos. Estas acciones pueden ser útiles para tratar o prevenir afecciones asociadas con trastornos metabólicos tales como los descritos anteriormente y en la solicitud de patente de Estados Unidos nº US20040228846. En la técnica se conocen ensayos para determinar dicha actividad. Por ejemplo, en la solicitud de patente de Estados Unidos publicada nº US20040228846, se describen ensayos para aislar y cultivar islotes, así como para determinar la maduración de islotes fetales. En los ejemplos de la solicitud de patente US20040228846, se adquirieron péptidos hormonales derivados de intestino que incluían polipéptido pancreático (PP), neuropéptido Y (NPY), neuropéptido K (NPK), PYY, secretina, péptido 1 similar a glucagón (GLP-1) y bombesina en Sigma. La colagenasa de tipo XI se adquirió en Sigma. El medio de cultivo RPMI 1640 y el suero bovino fetal se adquirieron en Gibco. Un kit de radioinmunoensayo que contenía anticuerpo anti-insulina (kit [<sup>125</sup>I]-RIA) se adquirió en Linco, St Louis.

40 Se obtuvieron islotes de ratas posparto de ratas de P-02 años de vida. Los islotes de rata adulta se obtuvieron de ratas de 6-8 semanas de vida. Los islotes fetales de rata se obtuvieron de la siguiente manera. Ratas hembra gestantes se sacrificaron el día E21 de gestación. Los fetos se extirparon del útero. Se diseccionaron 10-14 páncreas de cada camada y se lavaron dos veces en tampón Hanks. Los páncreas se agruparon, se suspendieron en 6 ml de colagenasa 1 mg/ml (Tipo XI, Sigma) y se incubaron a 37 °C durante 8-10 minutos con agitación constante. La digestión se detuvo añadiendo 10 volúmenes de tampón Hanks enfriado en hielo seguido de tres lavados con tampón Hanks. Los islotes se purificaron después mediante gradiente en Ficoll y se cultivaron en suero bovino fetal (SBF) al 10 %/medio RPMI con o sin adición de IBMX 1 µM. Transcurridos cinco días, se escogieron 20 islotes manualmente en cada tubo y se sometieron a ensayo para determinar la liberación de insulina estática. Generalmente, primero se lavaron los islotes con tampón KRP y después se incubaron con 1 ml de tampón KRP que contenía glucosa 3 mM (inferior) durante 30 minutos a 37 °C con agitación constante. Después de recoger el sobrenadante, los islotes se incubaron con glucosa 17 mM (superior) durante una hora a 37 °C. La insulina liberada de la estimulación de glucosa inferior o superior se ensayó mediante radioinmunoensayo (RIA) usando el kit [<sup>125</sup>I]-RIA. Los islotes fetales E21 se cultivaron durante 5 días en presencia de PYY, PP, CCK, NPK, NPY, Secretina, GLP-1 o Bombesina 200 ng/ml.

55 También se proporciona un ensayo ejemplar *in vivo* usando ratas macho Zucker Diabetic Fatty (ZDF), un modelo endogámico de rata (>F30 Generaciones) que expresa espontáneamente diabetes en todos los machos fa/fa alimentados con una dieta estándar para roedores Purina 5008. En los machos ZDF fa-fa, la hiperglucemia comienza a desarrollarse sobre las siete semanas de vida y los niveles de glucosa (con alimento) típicamente alcanzan 500 mg/DL a las 10 a 11 semanas de vida. Los niveles de insulina (con alimento) son altos durante el desarrollo de la diabetes. Sin embargo, a las 19 semanas de vida la insulina desciende a aproximadamente el nivel de miembros de control delgados de la misma camada. Los niveles de triglicéridos y de colesterol de las ratas obesas son normalmente más altos que los de las ratas delgadas. En este ensayo, tres grupos de ratas ZDF de 7 semanas de vida, con 6 ratas por grupo, recibieron el tratamiento por infusión mediante una bomba ALZA durante 14 días: 1) control con vehículo, 2) y 3), PYY con dos dosis diferentes, 100 pmol/kg/h y 500 pmol/kg/h respectivamente. Se tomaron cuatro mediciones antes de la infusión y después de la infusión los días 7 y día 14: 1) nivel de glucosa en plasma, 2) nivel de insulina en plasma y 3) nivel de triglicéridos (TG) en plasma, así como un ensayo oral de

tolerancia a glucosa (EOTT). Por consiguiente, estos ensayos pueden usarse con los compuestos de la invención para ensayar la actividad deseada.

5 Otros usos contemplados de los polipéptidos híbridos incluyen métodos para reducir las concentraciones de aluminio (Al) en el sistema nervioso central (véase la Patente de Estados Unidos 6.734.166, incorporada por referencia en su totalidad) para el tratamiento, prevención o retraso de la aparición de la enfermedad de Alzheimer. En la técnica se conocen ensayos para determinar los efectos de Al y pueden encontrarse en la Patente de Estados Unidos 6.734.166 usando ratones diploides y Ts. Estos ratones se instalaron individualmente en jaulas de ensayo de metabolismo de la marca Nalgene® o de polipropileno y antes de realizar el experimento de dejaron aclimatarse a las jaulas durante tres días. Durante el experimento los ratones tuvieron acceso libre al alimento (LabDiet® NIH Rat and Moust/Auto 6F5K52, St. Louis, Mo.) y al agua excepto durante las 16 horas antes de realizar la eutanasia que no se proporcionó alimento. A los ratones recibieron diariamente inyecciones subcutáneas bien del compuesto activo o de solución salina. En un experimento, los ratones se sacrificaron al final del día 13 y en otro experimento el día 3, y se recogieron las muestras. Las muestras de cerebro de ratón se pesaron en bolsas de teflón transparente y se prepararon para su análisis por digestión con microondas de ácido nítrico de calidad de bajo contenido en elementos traza. Después se analizó el contenido de Al de las muestras usando Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (Nuttall *et al.*, *Annals of Clinical and Laboratory Science* 25, 3, 264-271 (1995)). La manipulación de todos los tejidos durante el análisis se realizó en un entorno aséptico utilizando sistemas de filtración de aire HEPA para minimizar la contaminación de fondo. Los híbridos de la invención son útiles para la prevención y el tratamiento de nefropatía, incluyendo nefropatía hipertensiva y diabética, y nefropatía asociada con insulinoresistencia y síndrome metabólico. Los híbridos consiguen estas finalidades, entre otras cosas, mejorando o previniendo el empeoramiento de hipertensión, función endotelial, función renal y glomeruloesclerosis. En una realización, la invención proporciona un método para prevenir o tratar la nefropatía, incluyendo nefropatía hipertensiva y diabética, o la relacionada con la insulinoresistencia, que comprende administrar un compuesto de la invención. Los híbridos también se usan para mejorar la función endotelial en un paciente que tiene capacidad vasodilatadora reducida, o que tiene glomeruloesclerosis o cualquier otra reducción en el flujo glomerular. Dicha mejora en la función endotelial sirve tanto para reducir la hipertensión como para mejorar la función de los capilares de los glomérulos. En realizaciones adicionales, las moléculas de la invención son útiles para prevenir la progresión de nefropatía a ERT (enfermedad renal terminal), para prevenir, reducir la progresión de, tratar o mejorar la proteinuria y/o glomeruloesclerosis. Los híbridos son útiles para reducir el riesgo de padecer, prevenir o tratar arritmias cardíacas. Los híbridos pueden proporcionar efectos antiarrítmicos en pacientes con isquemia cardíaca, isquemia cardíaca - reperfusión e insuficiencia cardíaca congestiva. Por ejemplo, se ha descubierto que el GLP-1 reduce la lesión cardíaca y potencia la recuperación en pacientes con estos trastornos. Las incretinas, incluyendo el GLP-1, son hormonas insulino-trópicas dependientes de glucosa. El GLP-1 y la exendina potencian eficazmente la captación de glucosa periférica sin inducir hipoglucemia peligrosa. También suprimen fuertemente la secreción de glucagón, independiente de su acción insulino-trópica, y por lo tanto reducen poderosamente los niveles de ácidos grasos libres (AGL) en plasma sustancialmente más que lo que puede conseguirse con la insulina. Los niveles altos de AGL se han implicado como un mecanismo tóxico principal durante la isquemia miocárdica. En otra realización, los híbridos son útiles para prevenir y tratar las arritmias cardíacas al reducir de un modo fiable las lesiones asociadas con reperfusión e isquemia y aumentar la recuperación del paciente. En una realización adicional más el tratamiento con el híbrido después de ictus agudo o hemorragia, preferentemente por administración intravenosa, proporciona un medio para optimizar la secreción de insulina, aumentar el anabolismo del cerebro, potenciar la eficacia de la insulina suprimiendo el glucagón y manteniendo la euglucemia o hipoglucemia leve sin riesgo de hipoglucemia grave u otros efectos secundarios adversos. En una realización dichos híbridos contienen una parte de GLP-1 o exendina. En una realización adicional, un módulo de la familia de GLP1 o de exendina se combina con un módulo de péptidos de la familia de natriuréticos, péptidos de la familia de la amilina, péptidos de la familia de la urocortina para obtener un tratamiento potenciado o para la prevención de afecciones o enfermedades cardiovasculares incluyendo ICC, como se describe en el presente documento.

50 La insuficiencia cardíaca congestiva es una de las causas más significativas de morbilidad y mortalidad en países desarrollados. Se produce como una manifestación tardía en diversas enfermedades cardiovasculares caracterizadas por pérdida de masa contráctil y/o por sobrecarga de volumen o presión (Fortuno, *Hypertension* 38: 1406-1412 (2001)). Numerosos estudios han propuesto que la remodelación cardíaca es un determinante principal del ciclo clínico de la ICC, independientemente de su etiología (Fedak, *Cardiovascular Pathology* 14: 1-11 (2005)).  
55 La remodelación cardíaca es por tanto una diana atractiva para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva. Así pues, se desean agentes que actúan para prevenir o disminuir la remodelación cardíaca. De hecho, la bibliografía ha identificado una necesidad de moléculas que puedan atenuar la remodelación cardíaca (Fortuno, *Hypertension* 38: 1406-1412 (2001)). Informes bibliográficos indican que la atenuación de la remodelación ventricular también mejora la supervivencia después de lesión miocárdica, aunque se han asociado tratamientos que empeoran la remodelación con resultados paupérrimos, incluso cuando mejoran la función sistólica (Véase, Somasundaram, *Med. Clin. N. Am.*, 88: 1193-1207 (2004)).

65 Por consiguiente, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar enfermedades cardiovasculares, en una realización, insuficiencia cardíaca, aguda o crónica, en otra realización infarto de miocardio, en otra realización insuficiencia cardíaca isquémica e incluso en otra realización insuficiencia cardíaca congestiva. En una realización este tratamiento se proporciona previniendo o mejorando la lesión inducida por hiperglucemia al sistema



cardiovascular. En una realización este tratamiento se proporciona proporcionando un efecto cardioprotector. En otra realización este tratamiento se consigue con la prevención, retraso de la aparición de, atenuación o mejora de la remodelación cardiaca. En general, remodelación cardiaca se refiere a una reestructuración o rediseño de cualquiera de las cámaras cardiacas del corazón. En una realización, remodelación cardiaca se refiere a la reestructuración y rediseño de los ventrículos. Como se ha descrito anteriormente y sin pretender limitarse a la teoría, la remodelación cardiaca puede describirse como cambios genómicos después de un daño al miocardio, con posteriores cambios moleculares celulares e intersticiales, lo que conduce a la reestructuración y rediseño de las cámaras cardiacas. Dicha reestructuración y rediseño pueden manifestarse clínicamente como cambios en el tamaño, forma y función del corazón. La remodelación cardiaca puede producirse en respuesta a cualquier estímulo o combinación de estímulos en el miocardio. En una realización, la remodelación cardiaca es el resultado de una lesión miocárdica. Como ejemplos no limitantes, la remodelación cardiaca puede producirse en respuesta a lesiones miocárdicas dando como resultado infarto de miocardio, hipertensión, sobrecarga de volumen (por ejemplo, de regurgitación aórtica), infección, inflamación, diabetes, cardiomiopatía viral y cardiomiopatía idiopática.

En un aspecto, la remodelación cardiaca se previene, retrasa, atenúa o mejora con la administración de un híbrido de la invención. El híbrido puede comprender la capacidad de mejorar (potenciar) al menos uno de los siguientes parámetros cardiacos: función diastólica ventricular izquierda, proporción de onda E con respecto a onda A, presión diastólica final ventricular izquierda, rendimiento cardiaco, contractilidad cardiaca, masa ventricular izquierda, proporción de masa ventricular izquierda con respecto a peso corporal, volumen ventricular izquierdo, volumen auricular izquierdo, dimensión diastólica o dimensión sistólica final ventricular izquierda, tamaño del infarto, capacidad de ejercicio, eficacia del ejercicio o cualquier medida de función sistólica y/o diastólica cardiaca; o atenuar, retrasar o prevenir la dilatación una cámara cardiaca o un efecto dañino de uno de los parámetros cardiacos anteriores. En una realización el híbrido contiene un miembro de la familia de incretina, por ejemplo, exendina-4, que se une a GLP-1 o a un receptor de exendina. En el contexto de los métodos presentes, la prevención o mejora de la remodelación cardiaca puede incluir una reducción de la remodelación cardiaca mediante cualquier cantidad. En una realización, la prevención o mejora de la remodelación cardiaca viene acompañada por un riesgo reducido de insuficiencia cardiaca congestiva.

En una realización, la remodelación cardiaca se mejora o reduce a una cantidad que es menor de aproximadamente 1 %, 2 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % de la cantidad de la remodelación cardiaca en ausencia de la administración del híbrido. En otra realización, la remodelación cardiaca puede reducirse ligeramente, reducirse moderadamente, reducirse sustancialmente o eliminarse sustancialmente, en comparación con la ocurrencia de remodelación cardiaca en ausencia de la administración del híbrido. Como se usa en el presente documento, una ligera reducción de la remodelación cardiaca se refiere a una remodelación cardiaca que está disminuida aproximadamente un 25 % o menos, en comparación con la remodelación cardiaca en ausencia de la administración del híbrido. Una reducción moderada de la remodelación cardiaca se refiere a una remodelación cardiaca que está disminuida aproximadamente un 50 % o menos, en comparación con la remodelación cardiaca en ausencia de la administración del híbrido. Una reducción sustancial de la remodelación cardiaca se refiere a una remodelación cardiaca que está disminuida aproximadamente un 80 % o menos, en comparación con la remodelación cardiaca en ausencia de la administración del híbrido. Una eliminación sustancial de remodelación cardiaca se refiere a una remodelación cardiaca que está disminuida aproximadamente un 80 % o más en comparación con la remodelación cardiaca en ausencia de la administración del híbrido.

Para evaluar el grado al cual la remodelación cardiaca se previene, mejora, atenúa o retrasa, puede emplearse cualquier medio disponible para el experto en la técnica. Por ejemplo, la remodelación cardiaca puede evaluarse mediante análisis que incluyen, pero sin limitación, examen histológico del corazón, masa del VI, o durante la vida del sujeto, midiendo las dimensiones de la cámara y el espesor de las paredes y el movimiento, por ejemplo, por ecocardiografía o cuantificación de la función diastólica del Ventrículo Izquierdo (VI) usando la proporción de velocidad máxima de la onda E y de la onda A (proporción E/A).

En una realización, los sujetos que pueden beneficiarse de la administración del híbrido para prevenir, mejorar, atenuar o retrasar la remodelación cardiaca puede determinarla el experto en la materia a la luz de las afecciones y factores de riesgo relacionados con el sujeto. En una realización, los sujetos pueden necesitar la prevención, mejora, atenuación o retraso de la remodelación cardiaca. En otra realización, el sujeto puede desear prevenir, mejorar, atenuar o retrasar la remodelación cardiaca. Un factor de riesgo puede ser una predisposición genética para un corazón que se somete a remodelación cardiaca. Las muestras y sujetos ejemplares de los métodos presentes proporcionados en el presente documento incluyen aquellos que han padecido, que padecen o que están en riesgo de padecer una afección asociada con remodelación cardiaca. Una afección asociada con remodelación cardiaca puede ser cualquier afección o trastorno en el que se sabe o se piensa que puede producirse o que está en riesgo de producirse remodelación cardiaca. Las afecciones asociadas con remodelación cardiaca incluyen, por ejemplo, infarto de miocardio, inflamación, isquemia/reperfusión, estrés oxidativo, cor pulmonar, productos finales de glucosilación avanzada, tensión anómala de la pared cardiaca, estimulación simpática, miocarditis, hipertensión, cardiomiopatía viral, cardiomiopatía idiopática, trasplante de corazón y procedimientos quirúrgicos del corazón.

Como se ha mencionado anteriormente, el híbrido puede administrarse como resultado de un suceso agudo o una afección crónica. Tanto si se trata de un suceso agudo como de una afección crónica, los métodos proporcionados

en el presente documento incluyen el tratamiento crónico con el híbrido. Por tanto, la duración del tratamiento crónico puede incluir el tiempo en el que la transcurrido el suceso y se considera que el sujeto se ha recuperado del suceso agudo o se ha recuperado de la afección crónica.

5 La administración crónica de o el tratamiento con el híbrido para la prevención, atenuación, retraso o mejora de la remodelación cardiaca puede garantizarse cuando no se identifica ningún suceso transitorio o afección transitoria particular que esté asociado con la remodelación cardiaca. La administración crónica incluye la administración del híbrido durante un periodo de tiempo continuado, pero indefinido, en base a una predisposición general a la remodelación cardiaca o en base a una afección de predisposición que no sea transitoria (por ejemplo, una afección tal como la diabetes, que no sea transitoria puede no identificarse o no subordinarse a la eliminación). El híbrido puede administrarse crónicamente en los métodos proporcionados en el presente documento para prevenir la remodelación cardiaca en un sujeto que presente insuficiencia cardiaca congestiva independientemente de la etiología. La administración crónica del híbrido para la prevención o mejora de la remodelación cardiaca también pueden estar implicadas en diabéticos con riesgo de insuficiencia cardiaca congestiva. El híbrido también puede administrarse en una base crónica para preservar un órgano trasplantado en individuos que han recibido un trasplante de corazón. Cuando el híbrido se administra crónicamente, la administración puede continuar durante un tiempo. Sin embargo, la administración crónica a menudo se produce durante un periodo de tiempo prolongado. Por ejemplo, en una realización ejemplar, la administración crónica continua durante 6 meses, 1 año, 2 años o más.

20 En otra realización, los métodos desvelados en el presente documento conducen a contractilidad cardiaca mejorada. La contractilidad cardiaca mejorada puede incluir la capacidad de los miocitos cardiacos de contraerse. Para evaluar la mejora de la contractilidad cardiaca puede usarse cualquier modo de evaluación. Por ejemplo, la observación clínica, tal como un aumento en el rendimiento cardiaco o una disminución en la velocidad cardiaca, o ambas cosas, puede conducir a la determinación de contractilidad cardiaca aumentada. Como alternativa, puede evaluarse una contractilidad aumentada *in vivo* del corazón mediante una determinación de un acortamiento fraccional aumentado del ventrículo izquierdo. El acortamiento fraccional del ventrículo izquierdo puede observarse con cualquier medio disponible, tal como ecocardiografía. En la evaluación de la contractilidad cardiaca aumentada, el aumento del acortamiento fraccional del ventrículo izquierdo puede ser un aumento de cualquier cantidad en comparación con el acortamiento fraccional antes de la administración del híbrido. Por ejemplo, el aumento del acortamiento puede ser de aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 150 %, 200 % o más de aproximadamente 200 %.

35 En otro aspecto adicional, se proporciona un método para reducir o prevenir la remodelación auricular con la administración del híbrido. La reducción o prevención de la remodelación auricular puede evaluarse en comparación con la remodelación auricular antes de la administración del híbrido. Los efectos terapéuticos de dicha reducción o prevención de la remodelación auricular incluyen una reducción en la fibrilación auricular. Incluso en otro aspecto adicional, se proporciona un método para reducir o prevenir la remodelación ventricular con la administración del híbrido. La reducción o prevención de la remodelación ventricular puede evaluarse en comparación con la remodelación ventricular antes de la administración del híbrido.

40 En un aspecto adicional, se proporcionan métodos profilácticos y terapéuticos. Se contempla el tratamiento en una base aguda o crónica. Además, el tratamiento en una base aguda puede prolongarse a un tratamiento crónico, si se indica. Se contempla el tratamiento crónico que dura más de 2 semanas. En determinadas realizaciones, el tratamiento crónico puede durar más de 1 mes, 3 meses, 6 meses, 1 año, 2 años, 5 años o toda la vida. En un aspecto, en el presente documento se proporciona un método para el tratamiento o la prevención de una afección asociada con remodelación cardiaca en un sujeto que lo necesite. El método comprende generalmente administrar al sujeto una cantidad del híbrido eficaz para prevenir o mejorar la remodelación cardiaca, en la que la afección asociada con la remodelación se mejora, previene o retrasa de esta manera. Como se describe en el presente documento, la administración del híbrido puede efectuarse de cualquier manera, incluyendo con otros agentes que proporcionen beneficio cardiovascular.

55 Incluso en otra realización, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden adicionalmente la identificación de un sujeto que necesite el tratamiento. Puede usarse cualquier criterio eficaz para determinar que un sujeto puede beneficiarse de la administración del híbrido. Los métodos para el diagnóstico de la enfermedad cardiaca y/o diabetes, por ejemplo, así como los procedimientos para la identificación de individuos que están en riesgo de desarrollar estas afecciones, son muy conocidos en la técnica. Dichos procedimientos pueden incluir ensayos clínicos, exploración física, entrevistas personales y valoración del historial familiar.

60 En una realización adicional más los híbridos que pueden disminuir la insulinoresistencia o aumentar la sensibilidad a la insulina son útiles para tratar el síndrome del ovario poliquístico (SOPC). La administración de los híbridos de la invención puede reducir o prevenir la insulinoresistencia en un sujeto que padece SOPC. En otra realización adicional los híbridos previenen la aparición de la diabetes de tipo 2 en un sujeto que padece SOPC. Otros híbridos pueden restablecer menstruaciones regulares, ovulación o fertilidad en un sujeto que padece SOPC. En una realización, dichos híbridos contienen una parte de GLP1 o una exendina para unirse y activar un receptor de GLP1.

65

Los compuestos de la invención presentan un amplio espectro de actividades biológicas, algunas relacionadas con sus propiedades antisecretoras y antimotilidad. Los compuestos pueden suprimir las secreciones gastrointestinales por interacción directa con células epiteliales o, tal vez, inhibiendo la secreción de hormonas o neurotransmisores que estimulan la secreción intestinal. Las propiedades antisecretoras incluyen la inhibición de secreciones gástricas y/o pancreáticas y pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de enfermedades y trastornos que incluyen gastritis, pancreatitis, esófago de Barrett y Enfermedad de Reflujo Gastroesofágico.

Los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de diversos trastornos gastrointestinales (véase, por ejemplo, Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill Inco, Nueva York, 12ª Ed.) que están asociados con un exceso de electrolitos intestinales y secreción de agua, así como una absorción disminuida, por ejemplo, diarrea infecciosa, diarrea inflamatoria, síndrome del intestino delgado o la diarrea que se produce típicamente después de procedimientos quirúrgicos, por ejemplo, ileostomía. Los ejemplos de diarrea infecciosa incluyen, sin limitación, diarrea viral aguda, diarrea bacteriana aguda (por ejemplo, por *Salmonella*, *Camphylobacter* y *Clostridium* o debido a infecciones por protozoos) o diarrea del viajero (por ejemplo virus Norwalk o rotavirus). Los ejemplos de diarrea inflamatoria incluyen, sin limitación, síndrome de malaabsorción, esprúe tropical, pancreatitis crónica, enfermedad de Crohn, diarrea, síndrome del intestino irritable. También se ha descubierto que los péptidos de la invención pueden usarse para tratar una situación de urgencia o vital que implique un trastorno gastrointestinal, por ejemplo, después de cirugía o debido al cólera.

Los compuestos de la invención también pueden ser útiles para el tratamiento o prevención de daño intestinal contrariamente a tratar tan solo los síntomas asociados con el daño intestinal (por ejemplo, diarrea). Dicho daño al intestino puede ser, o ser un resultado de, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria intestinal, atrofia intestinal, pérdida de mucosa intestinal y/o pérdida de función de la mucosa intestinal (véase el documento WO 03/105763). En el documento WO 03/105763 se describen ensayos de dicha actividad, que incluyen ratas HSD macho de 11 semanas de vida, con un peso que varía de 250 a 300 gramos, instaladas en un ciclo de luz:oscuridad de 12:12, y con acceso a voluntad a una dieta estándar para roedores (Teklad LM 485, Madison, WI) y agua. Los animales se mantuvieron en ayunas durante 24 horas antes del experimento. Previamente Morris GP, *et al.*, "Hapten- induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon". *Gastroenterology*. 1989; 96: 795-803 habían descrito un modelo en ratas, simple y reproducible, de inflamación colónica crónica. Este modelo presenta una duración relativamente larga de inflamación y ulceración, lo que permite la oportunidad de estudiar la patofisiología de la enfermedad inflamatoria colónica de una manera específicamente controlada y evaluar nuevos tratamientos posiblemente aplicables a la enfermedad intestinal inflamatoria en seres humanos.

Las ratas se anestesiaron con isoflurano al 3 % y se colocaron en un conjunto de almohadillas térmicas reguladas a una temperatura de 37 °C. Se las insertó una aguja sonda por vía rectal en el colon de 7 cm. Se administró un hapteno, ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS) disuelto en etanol al 50 % (v/v) en el lumen del colon a través de la aguja sonda a una dosis de 30 mg/kg, en un volumen total de 0,4-0,6 ml, como describen Mazelin, *et al.*, en *Juton Nerv Syst*. 1998; 73: 38 45. Los grupos de control recibieron solución salina (NaCl al 0,9 %) por vía intracolónica.

Cuatro días después de la inducción de la colitis, el colon se resecó de las ratas anestesiadas, que después se sometieron a eutanasia por decapitación. Se registraron los pesos del colon y bazo resecados y se tomaron fotografías de los colones para puntuar el daño morfológico visual. La inflamación se definió como regiones de hiperemia y engrosamiento de la pared intestinal.

Los polipéptidos híbridos de la divulgación también pueden usarse para tratar o prevenir tumores pancreáticos (por ejemplo, inhibir la proliferación de tumores pancreáticos). Los métodos de la divulgación incluyen reducir la proliferación de células tumorales. Los tipos de células tumorales pancreáticas benignas que pueden tratarse de acuerdo con la presente divulgación incluyen adenomas quísticos serosos, tumores microquísticos y tumores quísticos sólidos. El método es también eficaz en la reducción de la proliferación de células tumorales pancreáticas malignas, tales como carcinomas que surgen de los conductos, acinos o islotes del páncreas. La patente de Estados Unidos 5.574.010 proporciona ensayos ejemplares para analizar propiedades antiproliferativas. Por ejemplo, la patente '010 establece que PANC-1 y MiaPaCa-2 son dos líneas de células cancerosas de adenocarcinoma pancreático humano que se encuentran disponibles en el comercio de proveedores tales como la Colección Americana de Cultivos Tipo, ATCC (Rockville, Md.). Las dos células tumorales se desarrollaron en medios de cultivo RPMI-1640 complementados con suero bovino fetal al 10 %, 29,2 mg/l de glutamina, gentamicina 25 µg, penicilina 5 ml, estreptomycin y solución de fungizona (JRH Biosciences, Lenexa, Kans.) a 37 grados Celcius en una incubadora con CO<sub>2</sub> al 5 % con camisa de agua NAPCO. Todas las líneas celulares se desprendieron con tripsina al 0,25 % (Clonetics, San Diego, Calif.) de una a dos veces por semana cuando se obtuvo una monocapa confluyente de células tumorales. Las células se sedimentaron durante 7 minutos a 500 g en una centrífuga enfriada a 4 grados Celsius y se resuspendieron en medio de cultivo RPMI 1640 reforzado sin tripsina. Las células viables se contaron con azul de tripano en un portaobjetos de tipo hemocitómetro.

Se añadieron 10.000, 20.000, 40.000 y 80.000 células de cada tipo a placas de microcultivo de 96 pocillos (Costar, Cambridge, Mass.) en un volumen total de 200 µl de medio de cultivo por pocillo. Se dejó que las células se adhieran durante 24 horas antes de la adición del PYY o péptido de ensayo. Antes de añadir los péptidos se renovó el medio de cultivo. La incubación *in vitro* de las células tumorales pancreáticas bien con PYY o con el

compuesto de ensayo prosiguió durante 6 y 36 horas. Se añadió PYY a las células a dosis de 250 pmol, 25 pmol y 2,5 pmol por pocillo (N =14). El compuesto de ensayo se añadió a los cultivos de células a dosis de 400 pmol, 40 pmol y 4 pmol por pocillo. Los pocillos de control recibieron 2 ul de solución salina al 0,9 % para imitar el volumen y la alteración física después de la adhesión de las células tumorales. Cada placa de 96 pocillos contenía 18 pocillos de control lo que permitía realizar comparaciones en cada placa durante el experimento. Placas de noventa y seis (96) pocillos se repitieron 6 veces con diversas concentraciones de PYY y compuesto de ensayo en ambas células PANC-1 y MiaPaCa-2.

Al final del periodo de incubación, se añadió bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, bromuro de MTr tetrazolio (Sigma, St. Louis, Mo.) a los medios de cultivo recientes a 0,5 mg/ml. Los medios de cultivo se cambiaron y las células tumorales se incubaron durante 4 horas con bromuro de MTT tetrazolio a 37 °C. Al final de la incubación, los medios de cultivo se aspiraron. En 200 µl de dimetil sulfóxido (Sigma, St. Louis, Mo.) se disolvieron precipitados de cristal Formazón. La cuantificación de formazón solubilizado se realizó obteniendo lecturas de absorción a una longitud de onda de 500 nm en un lector ELISA (Molecular Devices, Menlo Park, Calif.). El ensayo con MTT mide la actividad deshidrogenasa dependiente de NADH mitocondrial, y ha estado entre el método más sensible y fiable para cuantificar respuestas quimioterapéuticas *in vitro* de células tumorales. (Alley, M. C., *et al.*, Cancer Res., 48: 589-601, 1988; Carmichael, J., *et al.*, Cancer Res., 47: 936-942, 1987; McHale, A. P., *et al.*, Cancer Lett., 41: 315-321, 1988; y Saxton, R. E., *et al.*, J. Clin. Laser Med. y Surg., 10(5): 331-336, 1992). Se analizaron análisis de lecturas de absorción a 550 nm agrupando pocillos de las mismas condiciones de ensayo y verificando las diferencias que se producían entre los tratamientos de concentración de control y los diversos péptidos mediante ANOVA de una vía.

También se proporciona un ensayo ejemplar *in vivo*. Se examinó *in vivo* la inhibición del crecimiento de Mia Paca-2 de adenocarcinoma ductal pancreático humano por el péptido YY y el compuesto de ensayo. Se trasplantaron de setecientas mil a 100.000 células Mia PaCa-2 humanas de manera ortotópica en 48 ratones atímicos macho. Después de una semana, los animales se trataron bien con PYY o con el compuesto de ensayo a 200 pmol/kg/h mediante bombas mini osmóticas durante cuatro semanas. Los cultivos emparejados recibieron solución salina. En el momento del sacrificio, se midió tanto el tamaño como la masa tumoral. Los ratones control tuvieron un crecimiento de cáncer humano significativo en el páncreas tal y como se pone de manifiesto en cortes histológicos. A las 9 semanas, el noventa por ciento (90 %) de los ratones control tenían enfermedad metastásica sustancial. La masa tumoral disminuyó un 60,5 % en los ratones tratados con el compuesto de ensayo y un 27 % en los ratones tratados con PYY.

Los híbridos son también útiles para el tratamiento terapéutico y profiláctico de trastornos neurológicos y del sistema nervioso asociados con pérdida o insuficiencia neuronal, incluyendo, pero sin limitación, Enfermedad de Parkinson, Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Huntington, ALS, ictus, ADD, y síndromes neurosiquiátricos, y para potenciar o facilitar el aprendizaje, la memoria y el conocimiento en mamíferos. Particularmente útiles en este aspecto son los híbridos que contienen una parte activa de exendina o GLP1, más específicamente que comprenden al menos los 7-15 aminoácidos del N-terminal o análogos de los mismos, por ejemplo HSEGTFTSD (SEC ID N°: 378).

Para todos los síntomas, en realizaciones preferidas, el polipéptido híbrido de la invención se administra por vía periférica a una dosis de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 5 mg al día en dosis sencillas o divididas o con liberación continua controlada, o de aproximadamente 0,01 µg/kg a aproximadamente 500 µg/kg por dosis, más preferentemente de aproximadamente 0,05 µg/kg a aproximadamente 250 µg/kg, más preferentemente por debajo de aproximadamente 50 µg/kg. Las dosificaciones en estos intervalos variarán, por supuesto, con la fuerza de cada análogo o derivado y un experto en la técnica puede determinarlas.

En los métodos de la presente divulgación, los polipéptidos híbridos de la invención pueden administrarse por separado o junto con uno o más distintos compuestos y composiciones que presenten una acción a largo o corto plazo para reducir la disponibilidad de nutrientes, incluyendo, pero sin limitación, otros compuestos y composiciones que comprendan una amilina o un agonista análogo de amilina, calcitonina de salmón, una colecistoquinina (CCK) o agonista de CCK, una leptina (proteína OB) o agonista de leptina, una exendina o agonista análogo de exendina, o un GLP-1 o agonista análogo de GLP-1. Los agonistas de amilina adecuados incluyen, por ejemplo, [<sup>25,28,29</sup>Pro-] amilina humana (SEC ID N°: 67) (también conocida como "pramlintida", y descrita en las Patentes de Estados Unidos N° 5.686.511 y 5.998.367). La CCK usada es preferentemente un octapéptido de CCK (CCK-8), más preferentemente su forma sulfatada. La leptina se analiza, por ejemplo, en (Pelleymounter *et al.*, Science 269: 540-3 (1995); Halaas *et al.*, Science 269: 543-6 (1995); Campfield *et al.*, Science 269: 546-9 (1995)). Las exendinas adecuadas incluyen exendina-3 y exendina-4 y los compuestos agonistas de exendina incluyen, por ejemplo, los descritos en las Publicaciones PCT WO 99/07404, WO 99/25727 y WO 99/25728.

Como se indica en el presente documento, un híbrido de la invención puede administrarse por separado o junto con uno o más agentes distintos para obtener beneficios adicionales o potenciar el efecto del híbrido o del otro agente. Por ejemplo, un híbrido antiobesidad puede administrarse con un agente antiobesidad o con un agente cardioprotector o antihipertensión, dependiendo de los factores de riesgo pertinentes para el sujeto con necesidad

del tratamiento y del resultado del tratamiento deseado. Los agentes antiobesidad ejemplares para administrar (por separado o mezclados, antes, de manera simultánea o después) con un híbrido, incluyen inhibidores del transporte de serotonina (5HT), incluyendo, pero sin limitación, paroxetina, fluoxetina, fenfluramina, fluvoxamina, sertralina e imipramina. Los agentes antiobesidad también incluyen inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, incluyendo, pero sin limitación, dexfenfluramina, fluoxetina, sibutramina (por ejemplo MERIDIA®) y los descritos en la Patente de Estados Unidos Nº 6.365.633 y en las Publicaciones de Solicitud de Patente PCT Nos WO 01/27060 y WO 01/162341. Anteriormente se han descrito inhibidores del transporte de 5HT e inhibidores de la recaptación de serotonina, análogos, derivados, preparaciones, formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosificaciones y vías de administración.

Los agentes antiobesidad también incluyen agonistas selectivos de serotonina y agonistas selectivos de receptores de 5-HT<sub>2C</sub>, incluyendo, pero sin limitación, la Patente de Estados Unidos Nº 3.914.250; y las Publicaciones de Solicitud PCT Nos WO 02/36596, WO 02/48124, WO 02/10169, WO 01/66548, WO 02/44152; WO 02/51844, WO 02/40456, y WO 02/40457.

En la técnica se conocen dichos agonistas selectivos de serotonina y agonistas selectivos de receptores de 5-HT<sub>2C</sub>, las composiciones que contienen dichos agonistas y las vías de administración apropiadas para su uso en los métodos proporcionados. Véase, por ejemplo, Halford *et al.* (2005) *Curr. Drug Targets* 6: 201-213 y Weintraub *et al.* (1984) *Arch. Intern. Med.* 144: 1143-1148.

Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas/agonistas inversos de los receptores canabinoideos centrales (los receptores de CB-1), incluyendo, pero sin limitación, rimonabant (Sanofi Synthelabo), y SR-147778 (Sanofi Synthelabo). Previamente se han descrito antagonistas/agonistas inversos, derivados, preparaciones, formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosis y vías de administración de CB-1, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos 6.344.474, 6.028.084, 5.747.524, 5.596.106, 5.532.237, 4.973.587, 5.013.837, 5.081.122, 5.112.820, 5.292.736, 5.624.941; en las Solicitudes de Patente Europea Nos EP-656 354 y EP-658546; y en las Publicaciones de Solicitud PCT Nos WO 96/33159, WO 98/33765, WO98/43636, WO98/43635, WO 01/09120, WO98/31227, WO98/41519, WO98/37061, WO00/10967, WO00/10968, WO97/29079, WO99/02499, WO 01/58869, y WO 02/076949.

Los agentes antiobesidad también incluyen melanocortinas y agonistas de melanocortina. El receptor MC4R parece desempeñar una función en el equilibrio de energía y obesidad. Véase, por ejemplo, Anderson *et al.*, *Expert Opin. Ther. Patents* 11: 1583-1592 (2001), Speake *et al.*, *Expert Opin. Ther. Patents* 12: 1631-1638 (2002), Bednarek *et al.*, *Expert Opin. Ther. Patents* 14: 327-336 (2004). En la técnica se conocen agonistas de melanocortina, incluyendo, pero sin limitación, agonistas de MC4R y composiciones que contienen dichos agonistas, apropiadas para su uso en los métodos proporcionados. Previamente se han descrito agonistas de MCR, agonistas de MC4R, derivados, preparaciones, formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosis y vías de administración, por ejemplo, en las siguientes solicitudes de patente PCT WO 03/007949, WO 02/068388, WO 02/068387, WO 02/067869, WO 03/040117, WO 03/066587, WO 03/068738, WO 03/094918 y WO 03/031410.

Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas del receptor metabotrópico de glutamato del subtipo 5 (mGluR5), incluyendo, pero sin limitación compuestos tales como 2-metil-6-(fenil-etinil)-piridina (MPEP) y (3-[(2-metil-1,3-tiazol-4-il)etinil]piridina) (MTEP) y los compuestos descritos en Anderson *et al.* *J. Eur. J. Pharmacol.* 473: 35-40 (2003); Cosford *et al.* *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13(3):351-4 (2003); y Anderson *et al.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 303: 1044-1051 (2002).

Los agentes antiobesidad también incluyen topiramato (TOPIMAX® (Ortho McNeil Pharmaceuticals), indicado como un anticonvulsivo, pero también muestra aumentar la pérdida de peso. El agente también puede incluir inhibidores de lipasa, tales como orlistat.

Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas del neuropéptido Y1 (NPY1) y antagonistas de NPY5. En la técnica se conocen antagonistas de NPY1 y NPY5, Véase, por ejemplo, Duhault *et al.* (2000) *Can. J Physiol. Pharm.* 78: 173-185, y las Patentes de Estados Unidos Nos 6.124.331, 6.214.853 y 6.340.683. Previamente se han descrito antagonistas, derivados, preparaciones, formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosis y vías de administración de NPY1 y NPY5. Los antagonistas de NPY1 útiles en las composiciones y métodos proporcionados incluyen: la Patente de Estados Unidos Nº 6.001.836; y las Publicaciones de Solicitud PCT Nos WO 96/14307, WO 01/23387, WO 99/51600, WO 01/85690, WO 01/85098, WO 01/85173 y WO 01/89528.

Los antagonistas de NPY5 útiles en las composiciones y métodos de uso proporcionados en el presente documento, incluyen, sin limitación, los compuestos descritos en: las Patentes de Estados Unidos Nos 6.140.354, 6.191.160, 6.258.837, 6.313.298, 6.337.332, 6.329.395, 6.340.683, 6.326.375 y 6.335.345; en las Patentes Europeas Nos EP-01010691 y EP-01044970; y en las Publicaciones de Patente PCT Nos WO 97/19682, WO 97/20820, WO 97/20821, WO 97/20822, WO 97/20823, WO 98/27063, WO 00/64880, WO 00/68197, WO 00/69849, WO 01/09120, WO 01/85714, WO 01/85730, WO 01/07409, WO 01/02379, WO 01/02379, WO 01/23388, WO,01/23389, WO 01/44201, WO 01/62737, WO 01/62738, WO 01/09120, WO 02/22592, WO 0248152, WO 02/49648 y WO 01/14376.

- Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas de la hormona concentradora de melanina (MCH) que incluyen antagonistas del receptor 1 de la hormona concentradora de melanina (MCH1R), tales como T-226296 (Takeda) y antagonistas del receptor 2 de la hormona concentradora de melanina (MCH2R). Previamente se han descrito antagonistas, derivados, preparaciones, formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosis y vías de administración del receptor de MCH, por ejemplo, en las Publicaciones de Solicitud de Patente de Estados Unidos Nos 2005/0009815, 2005/0026915, 2004/0152742, 2004/0209865; en las Publicaciones de Solicitud de Patente PCT Nos WO 01/82925, WO 01/87834, WO 02/06245, WO 02/04433 y WO 02/51809; y en la Solicitud de Patente Japonesa N° JP 13226269.
- Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas opioides, incluyendo, pero sin limitación, los descritos en la Solicitud PCT N° WO 00/21509. Los antagonistas opioides específicos útiles en las composiciones y métodos de uso proporcionados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, nalmefeno (REVEX®), 3-metoxinaltrexona, naloxona, naltrexona, naloxonacina, beta-funaltrexamina, delta1 ([D-Ala2,Leu5,Cys6]-encefalina (DALCE), isotiocianato de naltrindol y norbinaltorfamina.
- Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas de orexina, incluyendo, pero sin limitación, los descritos en las Solicitudes de Patente PCT Nos WO 01/96302, WO 01/68609, WO 02/51232 y WO 02/51838. Los antagonistas de orexina específicos útiles en las composiciones y métodos de uso proporcionados incluyen, pero sin limitación, SB-334867-A.
- Los agentes antiobesidad también incluyen agonistas del neuropéptido Y2 (NPY2), incluyendo, pero sin limitación, compuestos tales como PYY3-36 (por ejemplo, Batterham *et al.* (2003) *Nature* 418: 650-654), NPY3-36 y otros agonistas de Y2 tales como N acetil [Leu(28,31)] NPY 24-36 (White-Smith *et al.* (1999) *Neuropeptides* 33: 526-533, TASP-V (Malis *et al.* (1999) *Br. J. Pharmacol.* 126: 989-996), ciclo-(28/32)-Ac-[Lys28-Glu32]-(25-36)-pNPY (Cabrele *et al.* (2000) *J. Pept. Sci.* 6: 97-122), que pueden administrarse bien como un componente híbrido, como se indica, o por separado. Los agentes antiobesidad proporcionados también incluyen agonistas del neuropéptido Y4 (NPY4) incluyendo, pero sin limitación, compuestos tales como el péptido pancreático (PP) (por ejemplo, Batterham *et al.* (2003) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 3989-3992) y otros agonistas de Y4 tales como 1229U91 (Raposinho *et al.* (2000) *Neuroendocrinology* 71: 2-7). Previamente los agonistas, derivados, preparaciones, formulaciones, composiciones farmacéuticas, dosis y vías de administración de NPY2 y de NPY4, se han descrito, por ejemplo, en la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2002/0141985 y en la Publicación de Solicitud de PCT N° WO 2005/077094.
- Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas/agonistas inversos de histamina 3 (H3), incluyendo, pero sin limitación, los descritos en la Solicitud PCT N° WO 02/15905, O-[3-(1H-imidazol-4-il)propanol]carbamatos (Kiec-Kononowicz *et al.* (2000) *Pharmazie* 55: 349-355), antagonistas del receptor de histamina H3 que contiene piperidina (Lazewska *et al.* (2001) *Pharmazie* 56: 927-932), derivados de benzofenona y compuestos relacionados (Sasse *et al.* (2001) *Arch. Pharm. (Weinheim)* 334: 45-52), N-fenilcarbamatos sustituidos (Reidemeister *et al.* (2000) *Pharmazie* 55: 83-86), y derivados de proxifan (Sasse *et al.* (2000) *J. Med. Chem.* 43: 3335-3343). Los antagonistas/agonistas inversos específicos de H3 útiles en las composiciones y métodos de uso proporcionados incluyen, pero sin limitación, tioperamida, 3-(1H-imidazol-4-il)propil N-(4-pentenil)carbamato, clobenpropit, yodofenpropit, imoproxifan y GT2394 (Gliatech).
- Los agentes antiobesidad también incluyen colecistoquinina (CCK) y agonistas de CCK. Los agonistas de colescistoquinina A (CCK-A) de uso incluyen, pero sin limitación, los descritos en la Patente de Estados Unidos N° 5.739.106. Los agonistas específicos de CCK-A incluyen, pero sin limitación, AR-R 15849, GI 181771, JMV-180, A-71378, A-71623 y SR146131.
- Los agentes antiobesidad también incluyen antagonistas de ghrelina tales como los descritos en las Publicaciones de Solicitud PCT Nos WO 01/87335 y WO 02/08250. Los antagonistas de ghrelina también se conocen como antagonistas de GHS (receptor secretagogo de la hormona del crecimiento). Por tanto, las composiciones y métodos proporcionados contemplan el uso de antagonistas de GHS en lugar de antagonistas de ghrelina.
- Los agentes antiobesidad incluyen obestatina y análogos y agonistas de obestatina. La obestatina es un péptido derivado del mismo precursor del que deriva la ghrelina, la preproghrelina. Véase, por ejemplo, Zhang *et al.* (2005) *Science* 310: 996-999; Nogueiras *et al.* (2005) *Science* 310: 985-986; Pan *et al.* (2006) *Peptides* 27: 911-916. A diferencia de la actividad de la ghrelina, la obestatina parece actuar como una hormona anoréxica disminuyendo la ingesta de alimento, actividades de vaciado gástrico, motilidad del yeyuno y aumento de peso corporal. Los péptidos de uso de obestatina incluyen, pero sin limitación, los descritos en Zhang *et al.* (2005) *Science* 310: 996-999.
- Y los amilinomiméticos, por ejemplo, pramlintida, amilina-sCT-amilina (Compuesto 10), incretinas, por ejemplo, exendina-4 y análogos de PYY, son agentes antiobesidad que también pueden administrarse como agentes antiobesidad con un híbrido. Por ejemplo, puede administrarse un híbrido de leptina-Compuesto 10 con exendina-4, un análogo de PYY o ambos. En otra realización puede administrarse un híbrido de leptina-análogo de PYY con exendina-4, un amilinomimético, o ambos.

En realizaciones de particular interés para el tratamiento de la diabetes y enfermedades relacionadas, como se indica en el presente documento, se encuentran híbridos que comprenden un módulo de la familia de la exendina y un alfa-MSH, y exendina y un miembro de la familia de la amilina. De particular interés son los híbridos en los que la exendina es exendina-4 o un análogo o derivado de la misma y el componente de amilina es pramlintida o una quimera de amilina-sCT-amilina.

En realizaciones de particular interés para el tratamiento de la obesidad y enfermedades y trastornos relacionados (reducción de grasa corporal) como se indica en el presente documento, se encuentran híbridos que comprenden un módulo de la familia de la exendina en combinación con un alfa-MSH, exendina con un miembro de la familia de la amilina, un miembro de la familia de la amilina con un miembro de la familia de PYY, un miembro de la familia de la amilina con un miembro de la familia de CCK, un miembro de la familia de la amilina con un miembro de la familia de alfa-MSH, un miembro de la familia de FN-38, un miembro de la familia de la amilina con un miembro de la familia de PYY, un miembro de la familia de PYY con otro miembro de la misma familia de PYY o diferente, un miembro de la familia de PYY con un miembro de la familia de CCK, un miembro de la familia de PYY con un miembro de la familia de FN-38, un miembro de la familia de CCK con un miembro de la familia de FN-38. De particular interés son los híbridos en los que la exendina es exendina-4 o un análogo o derivado de la misma, el componente de amilina es pramlintida o una quimera de amilina-sCT-amilina, el miembro de la familia de FN38 es FN38 o un análogo o derivado del mismo, la quimera de PYY es una quimera de PYY-NPY como se describe en el presente documento tal como las SEC ID Nos 266, 437, 438, 439, 442, 462, 469, 470, 471 y 472 del documento US 2006/013547A1 y la quimera de PYY-NPY 5705, por ejemplo.

#### Producción y purificación de polipéptidos

Los polipéptidos híbridos descritos en el presente documento pueden prepararse usando técnicas convencionales recombinantes o técnicas químicas de síntesis peptídica conocidas en la materia, por ejemplo, usando un sintetizador peptídico automatizado o semiautomatizado, o ambos.

Los polipéptidos híbridos de la invención pueden sintetizarse en solución o en un soporte sólido de acuerdo con técnicas convencionales. Se encuentran disponibles en el comercio diversos sintetizadores automáticos y pueden usarse de acuerdo con protocolos conocidos. Véase, por ejemplo, Stewart y Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2ª. ed., Pierce Chemical Co. (1984); Tam *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 105: 6442 (1983); Merrifield, *Science* 232: 341-7 (1986); y Barany y Merrifield, *The Peptides*, Gross and Meienhofer, eds., Academic Press, Nueva York, 1-284 (1979). La síntesis peptídica en fase sólida puede realizarse con un sintetizador peptídico automático (por ejemplo el Modelo 430A, Applied Biosystems Inc., Foster City, California) usando el sistema NMP/HOBt (Opción 1) y la química tBoc o Fmoc (véase, *Applied Biosystems User's Manual for the ABI 430A Peptide Synthesizer*, Versión 1.3 B 1, julio de 1988, sección 6, páginas 49-70, Applied Biosystems, Inc., Foster City, California) con protección. Los péptidos también pueden ensamblarse usando un sintetizador Advanced Chem Tech Synthesizer (Modelo MPS 350, Louisville, Kentucky). Los péptidos pueden purificarse por RP-HPLC (preparativa y analítica) usando, por ejemplo, un sistema Waters Delta Prep 3000 y una columna preparativa de C4, C8 o C18 (10  $\mu$ , 2,2 x 25 cm; Vydac, Hesperia, California). El péptido activo puede sintetizarse fácilmente después explorarse en ensayos de exploración diseñados para identificar péptidos reactivos.

De manera alternativa, los polipéptidos híbridos de la presente invención pueden producirse por técnicas recombinantes bien conocidas en la materia. Véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed., Cold Spring Harbor (1989). Estos polipéptidos híbridos producidos por tecnologías recombinantes pueden expresarse a partir de un polinucleótido. Un experto en la técnica apreciará que los polinucleótidos, incluyendo ADN y ARN, que codifican dichos de los varios fragmentos de los polipéptidos híbridos pueden obtenerse a partir del ADNc de tipo silvestre, teniendo en consideración la degeneración del uso de codones, o pueden modificarse por ingeniería genética, si se desea. Estas secuencias polinucleotídicas pueden incorporar codones que faciliten la transcripción y la traducción de ARNm en hospedadores microbianos. Dichas secuencias de fabricación pueden construirse fácilmente de acuerdo con los métodos bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, el documento WO 83/04053. Los polinucleótidos anteriores también pueden codificar opcionalmente un resto de metionilo N terminal. Pueden prepararse compuestos no peptídicos útiles en la presente invención con métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, usando métodos conocidos en la técnica pueden prepararse aminoácidos que contengan fosfato y péptidos que contengan dichos aminoácidos. Véase, por ejemplo, Bartlett y Landen, *Bioorg. Chem.* 14: 356-77 (1986).

Puede utilizarse una diversidad de vectores/sistemas hospedadores que contengan y expresen una secuencia codificante del polipéptido híbrido. Estos incluyen, pero sin limitación, microorganismos, tales como bacterias transformadas con bacteriófagos recombinantes, plásmidos o cósmidos, vectores de expresión de ADN; levaduras transformadas con vectores de expresión de levaduras; sistemas de células de insectos infectados con vectores de expresión de virus (por ejemplo, baculovirus); sistemas de células vegetales transfectadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformadas con vectores de expresión bacterianos (por ejemplo, plásmido Ti o pBR322); o sistemas de células animales. Las células de mamífero que son útiles en las producciones de proteínas recombinantes incluyen, pero sin limitación, células Vero, células HeLa, líneas celulares de ovario de hámster Chino (CHO), células COS (tales como

COS-7), células WI 38, BHK, HepG2, 3T3, RIN, MDCK, A549, PC12, K562 y 293. En el presente documento se describen protocolos ejemplares para la expresión recombinante de proteínas.

Así pues, las secuencias polinucleotídicas proporcionadas por la invención son útiles para generar nuevos y útiles vectores de ADN virales y plasmídicos, nuevas y útiles células hospedadoras procariontas y eucariotas transformadas y transfectadas (incluyendo células bacterianas, de levadura y de mamífero desarrolladas en cultivos) y nuevos y útiles métodos para el desarrollo del cultivo de dichas células hospedadoras capaces de expresar los polipéptidos híbridos de la presente invención. Las secuencias polinucleotídicas que codifican los polipéptidos híbridos del presente documento pueden ser útiles para la terapia génica en casos en los que se aliviaría la subproducción de la hormona (u hormonas) peptídica componente(s) de la quimera, o se satisfaría la necesidad de niveles mayores de la misma.

La presente invención también proporciona procesos de producción de ADN recombinante de los polipéptidos híbridos de la presente invención. Se proporciona un proceso para producir los polipéptidos híbridos a partir de una célula hospedadora que contiene los ácidos nucleicos que codifican dichos polipéptidos híbridos que comprende: (a) cultivar dicha célula hospedadora que contiene los polinucleótidos que codifican dichos polipéptidos híbridos en condiciones que faciliten la expresión de dicha molécula de ADN; y (b) obtener dichos polipéptidos híbridos.

Las células hospedadoras pueden ser procariontas o eucariotas e incluyen bacterias, células de mamífero (tales como células de Ovario de Hámster Chino (CHO), células de mono, células renales de cría de hámster, células cancerosas u otras células), células de levadura y células de insecto.

Para la expresión de la proteína recombinante los sistemas hospedadores de mamífero son también muy conocidos por los expertos en la técnica. Pueden seleccionarse cepas de células hospedadoras por una capacidad particular para procesar la proteína expresada o para producir determinadas modificaciones postraduccionales que serán útiles para proporcionar la actividad de la proteína. Dichas modificaciones del polipéptido incluyen, pero sin limitación, acetilación, carboxilación, glucosilación, fosforilación, lipidación y acilación. El procesamiento postraduccionales, que escinde una forma "prepro" de la proteína, también puede ser importante para una correcta inserción, plegamiento y/o función. Las diferentes células hospedadoras, tales como CHO, HeLa, MDCK, 293, WI38, y similares, tienen una maquinaria celular específica y unos mecanismos característicos para dichas actividades postraduccionales, y pueden seleccionarse para garantizar la correcta modificación y procesamiento de la proteína exógena introducida.

Como alternativa, para generar los polipéptidos híbridos de la presente invención puede emplearse un sistema de levaduras. La región codificante del ADNc del polipéptido híbrido se amplifica por PCR. Un ADN que codifica la secuencia líder pre-pro-alfa de levadura se amplifica a partir de ADN genómico de levadura en una reacción PCR usando un cebador que contiene 1-20 nucleótidos del gen del factor de emparejamiento alfa y otro cebador complementario a los nucleótidos 255-235 de este gen (Kurjan y Herskowitz, Cell, 30: 933-43 (1982)). La secuencia codificante líder pre-pro-alfa y los fragmentos de la secuencia codificante del polipéptido híbrido se ligan en un plásmido que contiene el promotor de la alcohol deshidrogenasa (ADH2) de levadura, de tal manera que el promotor dirige la expresión de una proteína de fusión que consiste en el factor pre-pro-alfa fusionado con el polipéptido híbrido maduro. Como explican Rose y Broach, Meth. Enz. 185: 234-79, Goeddel ed., Academic Press, Inc., San Diego, California (1990), el vector incluye adicionalmente un terminador de la transcripción de ADH2 cadena abajo del sitio de clonación, el origen de replicación de "2-micras" de levadura, el gen de leu-2d de levadura, los genes de REP1 y REP2 de levadura, el gen de la  $\beta$ -lactamasa de *E. coli* y un origen de replicación de *E. coli*. Los genes de la  $\beta$  lactamasa y de leu-2d proporcionan la selección en bacterias y levaduras, respectivamente. El gen de leu-2d también facilita el aumento del número de copias del plásmido en levaduras para inducir niveles de expresión más elevados. Los genes de REP 1 y REP2 codifican proteínas implicadas en la regulación del número de copias del plásmido.

La construcción de ADN descrita en el párrafo anterior se transforma en células de levadura usando un método conocido, por ejemplo, tratamiento con acetato de litio (Steams *et al.*, Meth. Enz. 185: 280-97 (1990)). El promotor de ADH2 se induce después de agotarse la glucosa en el medio de cultivo (Price *et al.*, Gene 55: 287 (1987)). La secuencia pre-pro-alfa efectúa la secreción de la proteína de fusión de las células. Simultáneamente, la proteína KEX2 de levadura escinde la secuencia pre-pro de los polipéptidos análogos a PYY maduros (Bitter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 5330-4 (1984)).

Los polipéptidos híbridos de la invención también pueden expresarse de manera recombinante en levaduras usando un sistema de expresión disponible en el comercio, por ejemplo, el Sistema de Expresión de *Pichia* (Invitrogen, San Diego, California), siguiendo las instrucciones del fabricante. Este sistema también se basa en la secuencia pre-pro-alfa para dirigir la secreción, pero la transcripción del inserto la dirige el promotor de la alcohol oxidasa (AOX1) tras inducción con metanol. El polipéptido híbrido secretado se purifica del medio de cultivo de la levadura, por ejemplo, mediante los métodos usados para purificar polipéptidos híbridos de sobrenadantes de células de mamífero y bacterianas.



- Como alternativa, el ADNc que codifica los polipéptidos híbridos puede clonarse en el vector de expresión baculovirus pVL1393 (PharMingen, San Diego, California). Este vector que contiene el polipéptido híbrido se usa después de acuerdo con las instrucciones del fabricante (PharMingen) para infectar células de *Spodoptera frugiperda* en medios sin proteína sF9 y para producir la proteína recombinante. La proteína se purifica y se concentra de los medios usando una columna de heparina-Sefarosa (Farmacia, Piscataway, Nueva Jersey) y columnas de clasificación secuencial según el tamaño molecular (Amicon, Beverly, Massachusetts), y se resuspende en PBS. El análisis SDS-PAGE muestra una sola banda y confirma el tamaño de la proteína, y la secuenciación Edman en un Secuenciador Peptídico Proton 2090 confirma su secuencia N terminal.
- Por ejemplo, la secuencia de ADN que codifica el polipéptido híbrido puede clonarse en un plásmido que contiene un promotor deseado y, opcionalmente, una secuencia líder (véase, por ejemplo, Better *et al.*, Science 240: 1041-3 (1988)). La secuencia de esta construcción puede confirmarse por secuenciación automatizada. Después el plásmido se transforma en *E. coli*, cepa MC1061, usando procedimientos convencionales que emplean incubación con CaCl<sub>2</sub> y tratamiento de choque térmico de las bacterias (Sambrook *et al.*, citado anteriormente). Las bacterias transformadas se cultivan en medio LB complementado con carbenicilina y la producción de la proteína expresada se induce por crecimiento en un medio adecuado. Si está presente, la secuencia líder afectará a la secreción del polipéptido híbrido y se escindirá durante la secreción. La proteína recombinante secretada se purifica del medio de cultivo bacteriano mediante el método descrito en el presente documento.
- Como alternativa, los polipéptidos híbridos de la invención pueden expresarse en un sistema de insecto. Los sistemas de insecto para la expresión de proteínas son bien conocidos por los expertos en la técnica. En un sistema de este tipo, como vector se usa el virus de la polihedrosis nuclear de *Autographa californica* (AcNPV) para expresar genes exógenos en células de *Spodoptera frugiperda* o en larvas de *Trichoplusia*. La secuencia que codifica el polipéptido híbrido se clona en una región no esencial del virus, tal como el gen de la polihedrina, y se coloca bajo el control del promotor de la polihedrina. La correcta inserción del polipéptido híbrido inactivará el gen de la polihedrina y producirá virus recombinantes sin envoltura de proteína de envoltura. Los virus recombinantes se usan después para infectar células de *S. frugiperda* o larvas de *Trichoplusia* y en las que se expresa el polipéptido híbrido (Smith *et al.*, J. Virol. 46: 584 (1983); Engelhard *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 3224-7 (1994)).
- En otro ejemplo, la secuencia de ADN que codifica el polipéptido híbrido puede amplificarse por PCR y clonarse en un vector apropiado, por ejemplo, pGEX-3X (Farmacia, Piscataway, Nueva Jersey). El vector pGEX se diseña para producir una proteína de fusión que comprende la glutatión-S-transferasa (GST), codificada por el vector, y una proteína codificada por un fragmento de ADN insertado en el sitio de clonación del vector. El cebador para la PCR puede degenerarse para que incluya, por ejemplo, un sitio de escisión apropiado. La proteína de fusión recombinante puede después escindirse de la parte GST de la proteína de fusión. La construcción pGEX-3X/polipéptido análogo PYY se transforma en células de *E. coli* XL-1 Blue (Stratagene, La Jolla, California) y los transformantes individuales se aíslan y se cultivan a 37 °C en medio LB (complementado con carbenicilina) a una densidad óptica a una longitud de onda de 600 nm de 0,4, seguido de incubación adicional durante 4 horas en presencia de isopropil β-D tiogalactopiranosido 0,5 mM (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri). El ADN plasmídico de los transformantes individuales se purifica y se secuencia parcialmente usando un secuenciador automatizado para confirmar la presencia del inserto génico que codifica el polipéptido híbrido PPF en la orientación apropiada.
- La proteína de fusión, que se esperaba que se produjese como un cuerpo de inclusión insoluble en las bacterias, puede purificarse de la siguiente manera. Las células se recogen por centrifugación; se lavan en NaCl 0,15 M, Tris 10 mM, pH 8, EDTA 1 mM; y se tratan con lisozima 0,1 mg/ml (Sigma Chemical Co.) durante 15 minutos a temperatura ambiente. El lisado se depura por ultrasonido y los restos celulares se sedimentan por centrifugación durante 10 minutos a 12.000 xg. El sedimento que contiene la proteína de fusión se resuspende en Tris 50 mM, pH 8, y EDTA 10 mM, se dispone sobre glicerol al 50 % y se centrifuga durante 30 minutos a 6000 xg. El sedimento se resuspende en solución salina tamponada con fosfato (PBS) convencional sin Mg<sup>++</sup> y Ca<sup>++</sup>. La proteína de fusión se purifica adicionalmente por fraccionamiento del sedimento resuspendido en un gel de poliacrilamida SDS desnaturizante (Sambrook *et al.*, mencionado anteriormente). El gel se sumerge en KCl 0,4 M para visualizar la proteína, que se escinde y se electroeluye en SDS que carece de tampón de desarrollo en gel. Si la proteína de fusión GST/polipéptido análogo de PYY se produce en bacterias como una proteína soluble, esta puede purificarse el Módulo de Purificación GST (Farmacia Biotech).
- La proteína de fusión puede someterse a digestión para escindir la GST del polipéptido híbrido PPF. La reacción de digestión (proteína de fusión 20-40 µg, 20-30 unidades de trombina humana (4000 U/mg (Sigma) en PBS 0,5 ml) se incuba durante 16-48 h a temperatura ambiente y se carga en un gel SDS-PAGE desnaturizante para fraccionar los productos de reacción. El gel se sumerge en KCl 0,4 M para visualizar las bandas de proteína. La identidad de las bandas de proteína correspondientes al peso molecular esperado del polipéptido híbrido puede confirmarse mediante análisis parcial de secuencias de aminoácidos usando un secuenciador automatizado (Applied Biosystems Model 473A, Foster City, California).
- En un método particularmente preferido de expresión recombinante de los polipéptidos híbridos de la presente invención, células 293 pueden cotransfectarse con plásmidos que contengan el ADNc del polipéptido híbrido en el

vector pCMV (promotor CMV 5', secuencia poli A HGH 3') y pSV2neo (contiene el gen de resistencia a neo) con el método de fosfato de calcio. Preferentemente, antes de la transfección los vectores deben de linealizarse con Scal. De manera similar, puede usarse una construcción alternativa usando un vector pCMV similar al del gen de neo incorporado. Se seleccionan líneas celulares estables de clones unicelulares por dilución limitante en medios de cultivo que contienen G418 (antibiótico similar a neomicina) 0,5 mg/ml durante 10-14 días. Las líneas celulares se exploran por ELISA o transferencia de Western para detectar la expresión del polipéptido híbrido, y las líneas celulares de alta expresión se expanden para un cultivo a gran escala.

Es preferible que para la producción de proteínas prolongada, a alto rendimiento, se usen células transformadas y por tanto es deseable la expresión estable. Una vez que dichas células se transforman con los vectores que contienen los marcadores de selección junto con el casete de expresión deseado, las células se dejan en cultivo durante 1-2 días en un medio enriquecido antes de cambiarse a un medio selectivo. El marcador de selección se diseña para que confiera resistencia a la selección y su presencia permite el crecimiento y la recuperación de las células que expresan satisfactoriamente las secuencias introducidas. Los grupos resistentes de células transformadas de manera estable pueden proliferarse usando técnicas de cultivo tisular apropiadas para la célula.

Para la producción de proteínas recombinantes pueden usarse diversos sistemas de selección para recuperar las células que se han transformado. Dichos sistemas de selección incluyen, pero sin limitación, genes de la timidina quinasa del HSV, de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa y de la adenina fosforribosiltransferasa, en células tk, hgprt o aprt, respectivamente. Además, puede usarse resistencia a anti-metabolitos, como base de selección para dhfr, que confiere resistencia a metotrexato; para gpt, que confiere resistencia a ácido micofenólico; para neo, que confiere resistencia al aminoglucósido G418; y además confiere resistencia a clorsulfurón; y para higo, que confiere resistencia a higromicina. Otros genes de selección que pueden utilizarse incluyen trpB, que permite a las células utilizar indol en lugar de triptófano, o hisD, que permite a las células utilizar histinol en lugar de histidina. Los marcadores que proporcionan una indicación visual para la identificación de transformantes incluyen antocianinas,  $\beta$ -glucuronidasa y su sustrato, GUS y luciferasa y su sustrato, luciferina.

Muchos de los polipéptidos híbridos de la presente invención pueden producirse usando una combinación de técnicas tanto de síntesis peptídica automatizada como recombinantes. Por ejemplo, un polipéptido híbrido de la presente invención puede contener una combinación de modificaciones que incluyan deleción, sustitución e inserción por PEGilación. Dicho polipéptido híbrido puede producirse en fases. En la primera fase, puede producirse un polipéptido intermedio que contenga las modificaciones de deleción, sustitución e inserción y cualquiera de sus combinaciones, mediante técnicas recombinantes como las descritas. Después de una etapa de purificación opcional, como se describe en el presente documento, el polipéptido intermedio se PEGila a través de modificación química con un reactivo PEGilante apropiado (por ejemplo, de Nektar Therapeutics, San Carlos, California) para producir el polipéptido híbrido deseado. Un experto en la técnica apreciará que el procedimiento anteriormente descrito puede generalizarse para aplicar a un polipéptido híbrido que contenga una combinación de modificaciones seleccionadas de deleción, sustitución, inserción, derivatización y otro medio de modificación bien conocido en la técnica y contemplado en la presente invención.

Puede ser deseable purificar los polipéptidos híbridos generados por la presente invención. Los expertos en la técnica conocen bien técnicas de purificación de péptidos. Estas técnicas implican, a un nivel, el fraccionamiento bruto del medio celular en fracciones polipeptídicas y no polipeptídicas. Habiendo separado el polipéptido del resto de proteínas, el polipéptido de interés puede purificarse adicionalmente usando técnicas cromatográficas y electroforéticas para obtener la purificación parcial o completa (o la purificación hasta la homogeneidad). Los métodos analíticos particularmente idóneos para la preparación de un péptido puro son, la cromatografía de intercambio iónico, la cromatografía de exclusión, la electroforesis en gel de poliacrilamida y el isoelectroenfoque. Un método particularmente eficaz para la purificación de péptidos es la HPLC (High-Performance Liquid Chromatography, cromatografía líquida de alto rendimiento) de fase inversa, seguido por caracterización del producto purificado por cromatografía líquida/espectrometría de masas (CL/EM) y espectrometría de masas por desorción-ionización láser asistida por matriz (MALDI, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization). La confirmación adicional de la pureza se obtiene determinando el análisis de aminoácidos.

Determinados aspectos de la presente invención conciernen a la purificación, y en realizaciones particulares, a la purificación sustancial de una proteína o un péptido codificado. La expresión "péptido purificado" como se usa en el presente documento, pretende referirse a una composición, que puede aislarse de otros componentes, en la que el péptido se purifica a cualquier grado con respecto a su estado obtenible de manera natural. Por lo tanto un péptido purificado también se refiere a un péptido, libre del entorno en el que se produce de manera natural.

En general, "purificado" se referirá a una composición peptídica que se ha sometido a fraccionamiento para eliminar diversos otros componentes, y cuya composición conserva sustancialmente su actividad biológica expresada. Cuando se usa la expresión "sustancialmente purificado(a)", este nombre se referirá a una composición en la que el péptido forme el principal componente de la composición, tal como constituyendo aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 95 % o más de los péptidos en la composición.

Los expertos en la técnica conocerán bien diversas técnicas adecuadas para su uso en la purificación de péptidos. Estas incluyen, por ejemplo, precipitación con sulfato de amonio, PEG, anticuerpos y similares; termo desnaturalización, seguido por centrifugación; etapas de cromatografía tales como cromatografía de intercambio iónico, de filtración en gel, de fase inversa, con hidroxapatita y de afinidad; isoelectroenfoque; electroforesis en gel, y combinaciones de dichas técnicas y otras. Como se sabe en general en la técnica, se piensa que el orden de la realización de las diversas etapas de purificación puede cambiarse, o que determinadas etapas pueden omitirse, y que aún dará como resultado un método adecuado para la preparación de una proteína o un péptido sustancialmente purificado(a).

No es un requisito en general que los péptidos siempre se proporcionen en su estado más purificado. De hecho, se contempla que, en determinadas realizaciones, tengan utilidad productos menos sustancialmente purificados. La purificación parcial puede realizarse usando menos etapas de purificación en combinación, o utilizando diferentes formas del mismo esquema de purificación general. Por ejemplo, se aprecia que una cromatografía en columna de intercambio catiónico, realizada utilizando un aparato de HPLC, generalmente de cómo resultado una purificación mayor "en veces" que la misma técnica utilizando un sistema de cromatografía a baja presión. Los métodos que presentan un menor grado de purificación relativa pueden tener ventajas en la recuperación total del producto de proteína, o en el mantenimiento de la actividad de una proteína expresada.

Se puede purificar opcionalmente y aislar dichos polipéptidos híbridos de otros componentes obtenidos en el proceso. En la Patente de Estados Unidos N° 5.849.883 pueden encontrarse métodos para purificar un polipéptido. Estos documentos describen métodos ejemplares específicos para el aislamiento y purificación de composiciones G-CSF que pueden ser útiles en el aislamiento y purificación de los polipéptidos híbridos de la presente invención. Dada la divulgación de estas patentes, resulta obvio que un experto en la técnica sería muy consciente de que pueden usarse numerosas técnicas de purificación para purificar los polipéptidos híbridos de una fuente determinada.

También se contempla poder emplear una combinación de cromatografía de intercambio aniónico e inmunofinidad para producir las composiciones polipeptídicas híbridas purificadas de la presente invención.

#### Composiciones farmacéuticas

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de al menos un polipéptido híbrido de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable junto con diluyentes conservantes, solubilizantes, emulsionantes, adyuvantes y/o transportadores farmacéuticamente aceptables útiles para suministrar los polipéptidos híbridos. Dichas composiciones pueden incluir diluyentes de diverso contenido en tampón (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica; aditivos tales como detergentes y agentes solubilizantes (por ejemplo Tween 80, Polisorbato 80), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito sódico), conservantes (por ejemplo, timersol, alcohol bencílico) y sustancias formadoras de volumen (por ejemplo, lactosa, manitol); incorporación de material en preparaciones particuladas de compuestos poliméricos, tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, etc. o en asociación con liposomas. Dichas composiciones ejercerán influencia sobre el estado físico, estabilidad, tasa de liberación *in vivo* y tasa de eliminación *in vivo* de los polipéptidos híbridos presentes. Véase, por ejemplo Remington's Pharmaceutical Sciences 1435-712, 18ª ed., Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania (1990).

En general, los presentes polipéptidos híbridos serán útiles de la misma manera que los polipéptidos componentes individuales son útiles a la vista de sus propiedades farmacológicas. Un uso preferido es administrar por vía periférica dichos polipéptidos híbridos para el tratamiento o prevención de afecciones y trastornos metabólicos. En particular, los compuestos de la invención poseen actividad como agentes para reducir la disponibilidad de nutrientes, reducir la ingesta de alimento, suprimir el apetito y efectuar la pérdida de peso. En otra realización, un uso preferido es administrar dichos polipéptidos híbridos para el tratamiento de la diabetes o afecciones y trastornos relacionados con la diabetes.

Los presentes polipéptidos híbridos pueden formularse por administración periférica, incluyendo formulación para inyección, administración oral, administración nasal, administración pulmonar, administración tópica, u otros tipos de administración como reconocerá un experto en la técnica. Más particularmente, la administración de las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención puede realizarse mediante cualquier vía habitual siempre que el tejido diana esté disponible mediante esa vía. En una realización preferida, las composiciones farmacéuticas pueden introducirse en el sujeto mediante cualquier método periférico convencional, por ejemplo, por administración intravenosa, intradérmica, intramuscular, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retrobulbar, intrapulmonar (por ejemplo liberación prolongada); oral, sublingual, nasal, vaginal o transdérmica o mediante implante quirúrgico en un sitio particular. El tratamiento puede consistir en una sola dosis o en una pluralidad de dosis durante un periodo de tiempo. También se contempla la liberación continua controlada de las composiciones de la presente invención.

La formulación puede ser líquida o puede ser sólida, tal como liofilizada, para su reconstitución. Las composiciones acuosas de la presente invención comprenden una cantidad eficaz del polipéptido híbrido, disuelto o disperso en un transportador o medio acuoso farmacéuticamente aceptable. La frase "farmacéutica o farmacológicamente

aceptable” se refiere a entidades moleculares y a composiciones que, cuando se administran a un animal o a un ser humano, no producen reacciones adversas, alérgicas u otras desfavorables. Como se usa en el presente documento, “transportador farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de absorción y similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce bien en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. En las composiciones también pueden incorporarse ingredientes complementarios activos. En algunos casos, será conveniente proporcionar un polipéptido híbrido de la invención y otro agente que reduzca la ingesta de alimento, que trate la diabetes, que disminuya la glucosa en plasma o que altere los lípidos en plasma, tal como una amilina, un análogo agonista de la amilina, una CCK o agonista de CCK, o una leptina o agonista de leptina, o una exendina o análogo agonista de exendina, en una sola composición o solución para la administración simultánea. En otros casos, puede ser más ventajoso administrar el agente adicional por separado de dicho polipéptido híbrido.

El polipéptido híbrido de la invención puede prepararse para administración como soluciones de base libre, o sales farmacológicamente aceptables en agua adecuadamente mezcladas con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácidos (formadas con los grupos amino libre de la proteína) y que se forman ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o tales como ácidos orgánicos como ácido acético, oxálico, tartárico, mandélico, y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libre también pueden obtenerse de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxido de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico y de bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares. Dichos productos se preparan fácilmente mediante procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica. También pueden prepararse dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones de almacenamiento y uso habitual, estas preparaciones contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

En una realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan de manera que sean idóneas para la administración parenteral, por ejemplo mediante inyección o infusión. Preferentemente, el polipéptido híbrido se suspende en un transportador acuoso, por ejemplo, en una solución tampón isotónica a un pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 8,0, preferentemente a un pH de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 7,4, de 3,5 a 6,0 o de 3,5 a aproximadamente 5,0. Los tampones útiles incluyen citrato sódico-ácido cítrico y fosfato sódico-ácido fosfórico y tampones de acetato sódico/ácido acético. Puede usarse una forma de preparación de liberación lenta de tipo almacén o “depósito” de tal manera que se suministren cantidades terapéuticamente eficaces de la preparación en la corriente sanguínea durante muchas horas o días después de una inyección o administración transdérmica.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación improvisada de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que sea fácil de inyectar. También es deseable que el polipéptido híbrido de la invención sea estable en condiciones de preparación y conservación y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El transportador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas idóneas de los mismos y aceites vegetales. La correcta fluidez puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede llevarse a cabo mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosol y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos (por ejemplo, azúcar o cloruro sódico). La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede llevarse a cabo mediante uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción (por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina).

Pueden prepararse soluciones inyectables estériles incorporando los compuestos activos en la cantidad necesaria en el disolvente apropiado con diversos otros ingredientes enumerados anteriormente, si se requiere, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, se preparan dispersiones incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contenga el medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son técnicas de secado al vacío y de liofilización, que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución de la misma previamente esterilizada por filtración.

Generalmente, se determinará una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de los presentes polipéptidos híbridos en función de la edad, peso y afección o gravedad de las enfermedades, afecciones o trastornos del receptor. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences 697-773. Véase también Wang y Hanson, Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers, Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2S (1988). Típicamente, puede usarse una dosificación de entre aproximadamente 0,001 µg/kg de peso corporal/día a aproximadamente 1000 µg/kg peso corporal/día, aunque

puede usarse más o menos, como reconocerá un médico experto en la técnica. La dosificación puede ser de una o varias veces al día, o menos frecuentemente, y puede ser junto con otras composiciones como se describe en el presente documento. Debe observarse que la presente invención no se limita a las dosificaciones indicadas en el presente documento.

5 Las dosificaciones apropiadas pueden determinarse mediante el uso de ensayos establecidos para determinar el nivel de las afecciones o trastornos metabólicos junto con datos relevantes de respuesta a dosis. El régimen de dosificación final lo determinará el médico tratante, considerando factores que modifiquen la acción de los fármacos, por ejemplo, la actividad específica del fármaco, la gravedad del daño y la respuesta del paciente, la edad, la  
10 afección, el peso corporal, el sexo y la dieta del paciente, la gravedad de cualquier infección, el tiempo de administración y otros factores clínicos. A medida que se realicen estudios, se generará información adicional con respecto a los niveles de dosificación apropiados y la duración del tratamiento para enfermedades y afecciones específicas.

15 Una dosis eficaz típicamente estará en el intervalo de aproximadamente 1 a 30  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 5 mg/día, preferentemente de aproximadamente 10 a 30  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 2 mg/día y más preferentemente de aproximadamente 5 a 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1 mg/día, más preferentemente de aproximadamente 5  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 500  $\mu\text{g}$ /día, para un paciente de 50 kg de peso, administrada en una sola dosis o en dosis divididas. Preferentemente, las dosificaciones son entre aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$ .  
20 La dosis exacta a administrar puede determinarla un experto en la técnica y depende de la fuerza del compuesto particular, así como de la edad, peso, y afección del individuo. La administración debe comenzar cada vez que se desee, por ejemplo, modular la supresión de la disponibilidad de nutrientes, la ingesta de alimento, el peso, la glucosa en sangre o los lípidos en plasma, por ejemplo, al primer signo de los síntomas o poco tiempo después de un diagnóstico de obesidad, diabetes mellitus o síndrome de insulinoresistencia. La administración puede realizarse mediante cualquier vía, por ejemplo, inyección, preferentemente subcutánea o intramuscular, oral, nasal, transdérmica, etc. Las dosificaciones para determinadas vías, por ejemplo, administración oral, pueden aumentar para tener en cuenta la disminución de la biodisponibilidad, por ejemplo, en aproximadamente 5-100 veces.

La administración parenteral puede realizarse con un bolo inicial seguido de infusión continua para mantener los niveles terapéuticos en circulación del producto farmacéutico. Los expertos habituales en la técnica optimizarán fácilmente dosificaciones y regímenes de administración eficaces, determinados por la buena práctica médica y la afección clínica del paciente individual.

La frecuencia de la dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos de los agentes y vías de administración. La formulación farmacéutica óptima la determinará un experto en la técnica dependiendo de la vía de administración y de la dosificación deseada. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, citado anteriormente, páginas 1435-1712. Dichas formulaciones pueden ejercer influencia sobre el estado físico, estabilidad, tasa de liberación *in vivo* y tasa de eliminación *in vivo* de los agentes administrados. Dependiendo de la vía de administración, puede calcularse una dosis adecuada de acuerdo con el peso corporal, las áreas superficiales corporales o el tamaño del órgano. El refinamiento adicional de los cálculos necesarios para determinar la dosis de tratamiento apropiada se realiza rutinariamente por los expertos en la técnica sin experimentación excesiva, especialmente a la luz de la información de dosificación y de los ensayos descritos en el presente documento, así como de los datos farmacocinéticos observados en ensayos clínicos realizados en animales y en seres humanos.

45 Se apreciará que las composiciones farmacéuticas y los métodos de tratamiento de la invención pueden ser útiles en los campos de la medicina humana y de la medicina veterinaria. Por tanto, el sujeto a tratar puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano u otro animal. Para fines veterinarios, los sujetos incluyen, por ejemplo, animales de granja incluyendo vacas, ovejas, cerdos, caballos y cabras, animales de compañía tales como perros y gatos, animales exóticos y de zoológico, animales de laboratorio incluyendo ratones, ratas, conejos, cobayas y hámsteres,  
50 y aves de corral tales como pollos, pavos, patos y gansos.

Además, la presente invención contempla un kit que comprende un polipéptido híbrido de la invención, componentes adecuados para preparar dicho polipéptido híbrido de la invención para su aplicación farmacéutica, e instrucciones de uso de dicho polipéptido híbrido y componentes para la aplicación farmacéutica.

55 Para ayudar a comprender la presente invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Los experimentos relacionados con esta invención no deberían, por supuesto, considerarse como limitativos específicamente de la invención y se considera que dichas variaciones de la invención, conocidas ahora o desarrolladas más tarde, que estarían dentro del alcance de un experto en la materia, están dentro del alcance de la invención como se describe en el presente documento y se reivindica más adelante.

### Ejemplos

65 La presente invención se describe con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes que se proporcionan para ilustrar más completamente la invención, pero no deben considerarse como limitantes del alcance

de la misma. Los ejemplos ilustran la preparación de los polipéptidos híbridos presentes, y el ensayo *in vitro* y/o *in vivo* de estos polipéptidos híbridos de la invención. Los expertos en la técnica entenderán que las técnicas descritas en estos ejemplos representan técnicas descritas por los inventores para que funcionen bien en la realización práctica de la invención, y como tal constituyan modos preferidos de la misma. Sin embargo, debe apreciarse que, a la luz de la presente divulgación, los expertos en la técnica apreciarán que pueden realizarse muchos cambios en los métodos específicos que se desvelan y aun así obtener un resultado similar o igual sin alejarse del espíritu de la invención.

#### Ejemplo 1. Preparación de polipéptidos híbridos

Los polipéptidos de la invención pueden ensamblarse en un sintetizador peptídico Symphony (Protein Technologies, Inc.) usando resina de amida Rink (Novabiochem) con una carga de 0,43-0,49 mmol/g a 0,050-0,100 mmol o una Resina Wang previamente cargada (resina Fmoc-Tyr(tBu)-Wang) a 0,63 mmol/g (Novabiochem). Los restos de aminoácido Fmoc (5,0 eq, 0,250-0,500 mmol) se disuelven a una concentración de 0,10 M en 1-metil-2-pirrolidinona. El resto de agentes (HBTU, hidrato de 1-hidroxibenzotriazol y *N,N*-diisopropiletiamina) se preparan como soluciones de dimetilformamida 0,55 M. Después, los aminoácidos protegidos con Fmoc se acoplan al aminoácido unido a la resina usando HBTU (2,0 eq, 0,100-0,200 mmol), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (1,8 eq, 0,090-0,18 mmol), *N,N*-diisopropiletiamina (2,4 eq, 0,120-0,240 mmol) durante 2 horas. Después del último acoplamiento aminoacídico, el péptido se desprotege usando piperidina al 20 % (v/v) en dimetilformamida durante 1 hora. Una vez que se completa la secuencia peptídica, el sintetizador peptídico Symphony se programa para escindir la resina. La escisión del péptido de la resina con ácido trifluoroacético (TFA) se realiza usando TFA al 93 %, fenol al 3 %, agua al 3 % y triisopropilsilano al 1 % durante 1 hora. El péptido escindido se precipita usando *tert*-butil metil éter, se sedimenta por centrifugación y se liofiliza. El sedimento se redisuelve en agua (10-15 ml), se filtra y se purifica a través de HPLC de fase inversa usando una columna C18 y un gradiente de acetonitrilo/agua que contiene TFA al 0,1 %.

Un procedimiento general para la N protección de los péptidos de la invención con ácidos grasos (por ejemplo ácidos octanoíco y esteárico) es el siguiente: el péptido se suspende en una resina amida Rink (0,1 mmol) en NMP (5 ml). En un vial distinto, se disuelve HBTU (0,3 mmol), HOBt (0,3 mmol) en DMF (5 ml) seguido de la adición de DIEA (0,6 mmol). Esta solución se añade a la resina y esta suspensión se agita durante 2 horas. El disolvente se filtra y se lava cuidadosamente con NMP (5 mlx4) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml), se seca y se somete a escisión con TFA durante 1 h. El rendimiento del péptido deseado es de aprox. 40 mg después de la escisión y purificación.

La modificación con PEG puede realizarse en solución en un grupo sin amino épsilon de lisina o un grupo amino terminal de un péptido purificado usando ésteres de PEG activados disponibles en el comercio. Los derivados PEGilados resultantes se purifican hasta la homogeneidad mediante HPLC de fase inversa y la pureza se confirma por cromatografía líquida/espectrometría de masas (CL/EM) y espectrometría de masas por desorción-ionización láser asistida por matriz (MALDI-EM).

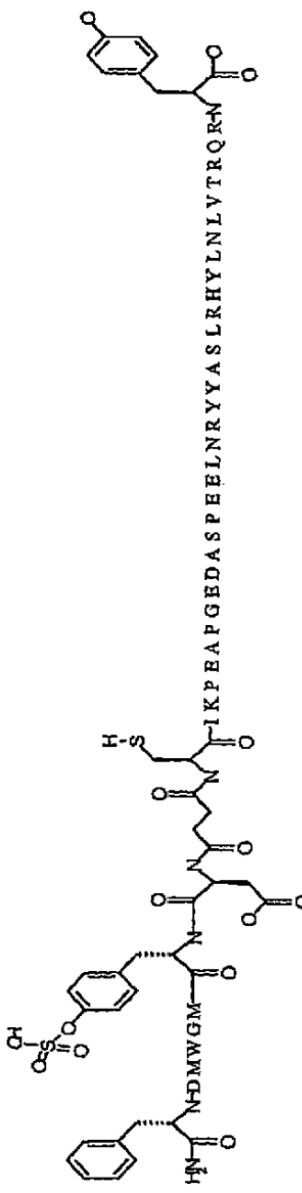
En la Tabla 1-1 se muestran determinados polipéptidos híbridos ejemplares de la divulgación. Se contemplan diversas modificaciones de los compuestos representados, tales como modificaciones químicas como glucosilación, modificaciones con PEG, etc., modificaciones de aminoácidos tales como sustituciones, inserciones y deleciones, etc. Además, incluso aunque se representen como amidados en el extremo C, se entiende que los polipéptidos híbridos de la invención pueden estar, de manera alternativa, en forma de ácido libre.

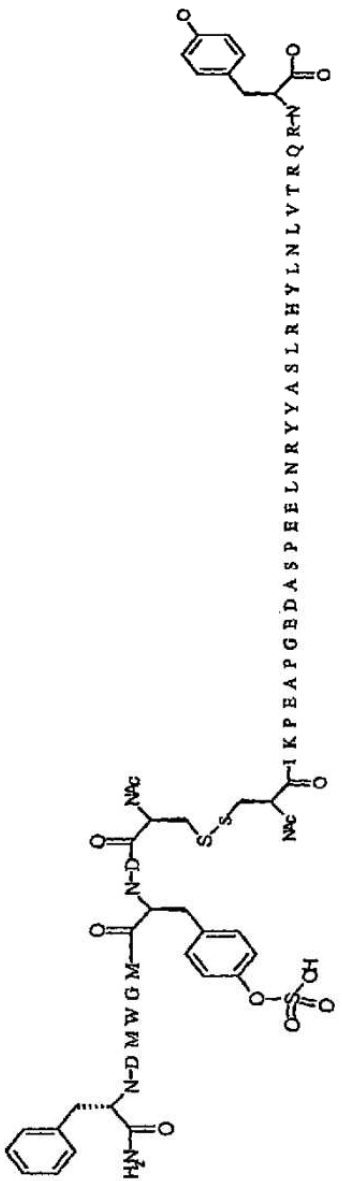
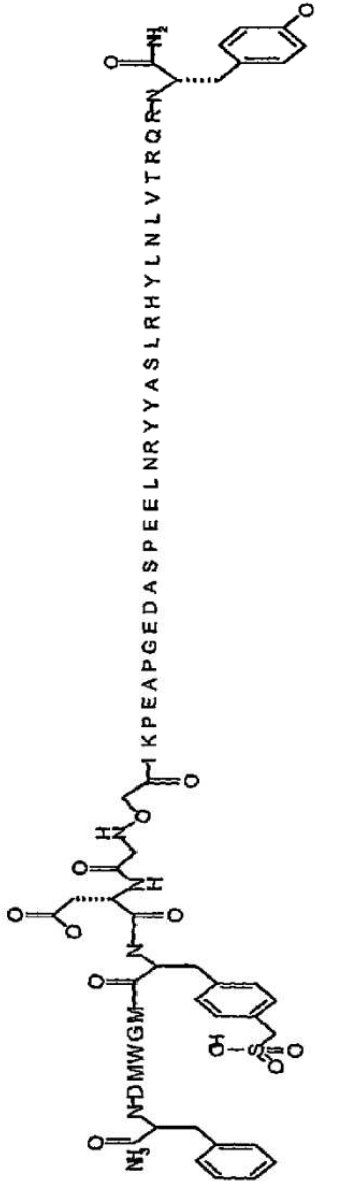
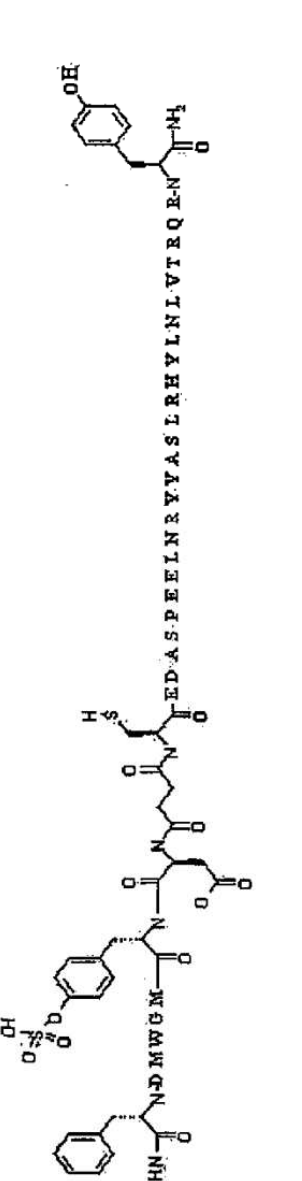
Tabla 1-1: determinados compuestos híbridos ejemplares de la divulgación

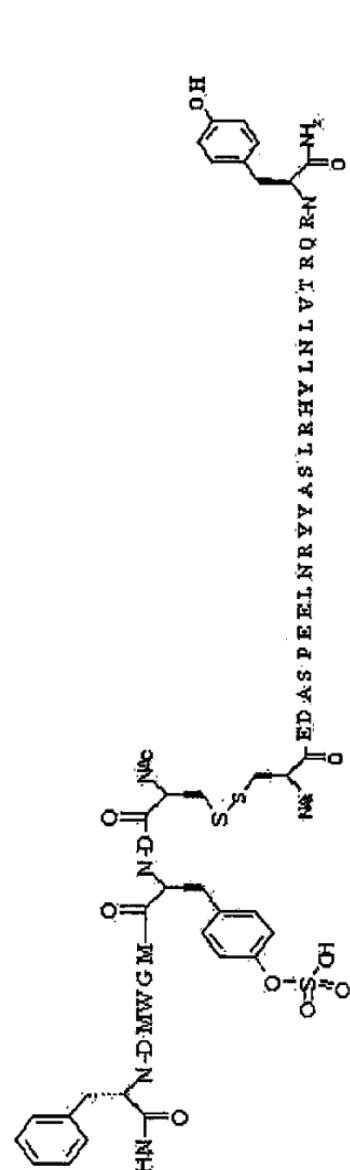
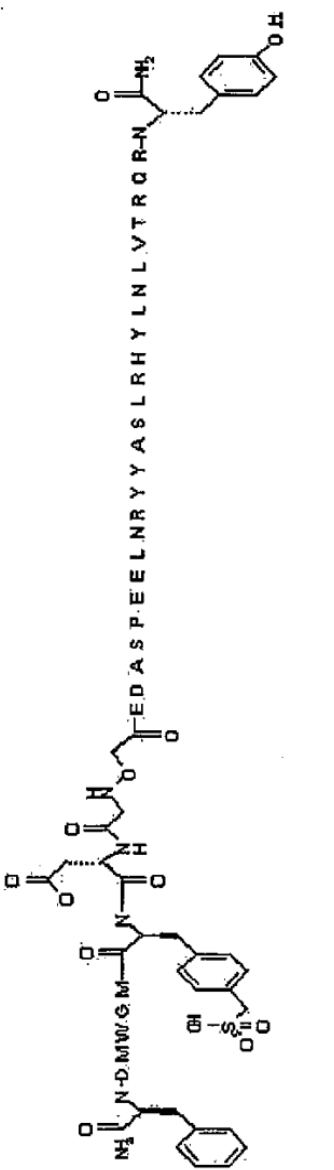
SEC ID:	
1	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNKGGPSSGAPPS-ASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
2	HGEGTFTSDLSKOMEIEAVRLFIEWLKNKGGPSSGAPPS-RHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
3	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKNKGGPSSGAPPS-NRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
4	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKNKGGPSSGAPPS-βAla-βAla-ASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
5	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKNKGGPSSGAPPS-βAla-βAla-RHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
6	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKNKGGPSSGAPPS-βAla-βAla-VTRQRY-NH <sub>2</sub>
7	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKN-ASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
8	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKN-RHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
9	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKN-NRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
10	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKN-βAla-βAla-ASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
11	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKN-βAla-βAla-RHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
12	HGEGTFTSDLSKQMEIEAVRLFIEWLKN-βAla-βAla-VTRQRY-NH <sub>2</sub>
13	HGEGTFTSDLSKQLEIEAVRLFIEFLKNNRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
14	HGEGTFTSDLSKQLEIEAVRLFIEFLKNASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
15	HGEGTFTSDLSKQLEIEAVRLFIEFLKNRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
16	HGEGTFTSDLSKQLEIEENRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>

SEC ID:	
17	HGEGFTSDLSKQLEEEAVRLFIEFLKN-βAla-βAla-ASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
18	HGEGFTSDLSKQLEEEAVRLFIEFLKN-βAla-βAla-RHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
19	HGEGFTSDLSKQLEEEAVRLFIEFLKN-βAla-βAla-VTRQRY-NH <sub>2</sub>
20	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGSSGAPPS-DY(SO <sub>3</sub> )MGWMDF-NH <sub>2</sub>
21	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-DY(SO <sub>3</sub> )MGWMDF-NH <sub>2</sub>
22	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )MGWMDF-NH <sub>2</sub>
23	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-[8-amino-3,6-dioxaoctanoil]-DY(SO <sub>3</sub> )MGWMDF-NH <sub>2</sub>
24	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-[8-amino-3,6-dioxaoctanoil]-DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )MGWMDF-NH <sub>2</sub>
25	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKKCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
26	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKKANTATAVLG-NH <sub>2</sub>
27	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-12-Ado-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
28	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-12-Ado-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
29	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-3,6-dioxaoctanoil-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
30	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-3,6-dioxaoctanoil-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
31	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-5-Apa-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
32	HGEGFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN-5-Apa-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>



SEC ID:	
33	HGEGTFTSDLKQMEEEAVRLFIEWLKN- $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
34	HGEGTFTSDLKQMEEEAVRLFIEWLKN- $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
35	HGEGTFTSDLKQMEEEAVRLFIEWLKN-4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
36	HGEGTFTSDLKQMEEEAVRLFIEWLKN-4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
203	DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )MGWMDF-GKR-KCNTATCATQRLANELVRLQTYPRNTVGSNTY-NH <sub>2</sub>
38	KCNTATCATQRLANELVR-RYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
39	isocaproil-STAVL-(Aib)-K(formil )-LSQEL-(Aib)-K(formil )-LQT-NRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
40	isocaproil-STAVL-(Aib)-K(formil )-LSQEL-(Aib)-K(formil )-L-ELNRYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub>
41	

<p>SEC ID:</p>	
<p>42</p>	
<p>43</p>	
<p>309</p>	

SEC ID:	
310	
311	
27	<sup>29</sup> 12 Ado-Exendina(1-28)-hAmlina(1-7) <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmlina(33-37)
28	<sup>29</sup> 12 Ado-Exendina(1-28) <sup>1</sup> -des-Lys-hAmlina(1-7) <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmlina(33-37)
29	<sup>29</sup> 3,6-dioxaoctanoyl-Exendina(1-28)-hAmlina(1-7) <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmlina(33-37)
30	<sup>29</sup> 3,6-dioxaoctanoyl-Exendina(1-28) <sup>1</sup> -des-Lys-hAmlina(1-7) <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmlina(33-37)
31	<sup>29</sup> 5 Apa-Exendina(1-28)-hAmlina(1-7) <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmlina(33-37)

SEC ID:	
32	<sup>29</sup> 5 Apa-Exendina(1-28) <sup>1</sup> -des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
33	<sup>29</sup> betaAla-betaAla-Exendina(1-28), hAmilina(1-7) <sup>1,16</sup> - Arg-sCt(8-27)- hAmilina(33-37)
34	<sup>29</sup> betaAla-betaAla-Exendina(1-28) <sup>1</sup> -des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCt(27)-hAmilina(33-37)
35	<sup>29</sup> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-Exendina(1-28)-hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
36	<sup>29</sup> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidil-Exendina(1-28)-des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
312	<sup>29</sup> (Gly-Gly-Gly)-Exendina(1-28), hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37)
313	<sup>29</sup> (Gly-Gly-Gly)-Exendina(1-28) <sup>1</sup> -des-Lys-hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCt(27)-hAmilina(33-37)

En la siguiente tabla se encuentran otros híbridos ejemplares que comprenden diversas combinaciones de familias de péptidos componentes. Sus híbridos análogos y derivados como se comenta en el presente documento también se contemplan específicamente. El carácter “#” indica la localización del enlace de cada componente. Los enlazadores indicados son como se describen en el presente documento. CCK-8 es DY(SO<sub>3</sub>H)MGW MDF-NH<sub>2</sub> mientras que “CCK-8\*” es la forma de fenilalanina sulfatada DF(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H)MGW MDF-NH<sub>2</sub>.

5

Compuesto N°	Familia	Nombre/Secuencia
4240	Exendina Amilina	Exendina4(1-27) hAmi(1-7),11Arg)sCT(8-27),hAmi(33-77) HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKKCNTATCVLGRLSQ ELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
4487	Exendina CCK8	EX(1-28) CCK8(Y <sub>2</sub> YSO <sub>3</sub> H) HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKNDY(SO <sub>3</sub> H)MGWMD F-NH <sub>2</sub>
4489	Exendina CCK8	EX(1-28) CCK8(Y <sub>2</sub> FCH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H) HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKNDY(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> h)MGW MDF-NH <sub>2</sub>
5133	Exendina Amilina	Exendina-4-(1-28) Gly-Gly-Gly-hAmi-(1-7)-[Arg11,Arg18]sCT-(8-27)-hAmi-(33-37), amida HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKNGGGKCNATCVLG RLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
5453	Exendina4 Amilina	Exendina-4-(1-28)-bAla-bAla-Amilina de rata, amida HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKN(beta-A)(beta-A)KCNATCATQRLANFLVRSSNNGPVLPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub>
5138	Exendina4 Amilina-sCT- amilina	Exendina-4-(1-28)-betaAla-betaAla-Compuesto 10 - amida HGEGTFTSDLKQMEEEEAVRLFIEWLKN(beta-A)(beta-A)KCNATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub>
5401	PYY(3-36 Amilina-sCT- amilina	[#Suc-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#NH-des-Lys1-Compuesto 10-amida] [#NH-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub> ][#Suc-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ]
5403	PYY (3-36) Amilina-sCT- amilina	[#Mal-Bu-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#S-Prp-(bAla)-Compuesto 10, amida] [#S-Prp-(beta-A)KCNATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub> ][[#Mal-Bu-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ]
5426	PYY (3-36) Amilina	[#Suc-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#NH-Des-Lys1-Rata, Amilina, amida] [#NH-CNTATCATQRLANFLVRSSNNGPVLPTNVGSNTY-NH <sub>2</sub> ][#Suc-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ]
5457	Amilina-sCT- amilina CCK8	[#S-Prp-(bAla)-Compuesto 10, amida] [#Mal-Bu-(bAla)-CCK-8, amida] [#Mal-Bu-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)MGW MDF-NH <sub>2</sub> ][#S-Prp-(beta-A)KCNATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub> ]
4277	CCK8  Amilina	27(p-CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )-PheCCK8(26-33),G,K,R,15Glu,hAmi(1-17),18Arg,Sct(18-26),hAmi(32-37) hAmi(1-17), 18Arg,Sct(18-26),hAmi(32-37) DF(p-CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )MGWMDFGKRKCNTATCATQRLANELVRLQTYPR TNVGSNTY-NH <sub>2</sub>
5498	Amilina-sCT- amilina CCK8	[#NH-des-Lys1-Compuesto 10-amida] [#Suc-(bAla)-CCK8, amida] [#NH-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRTNTGSNTY-NH <sub>2</sub> ][#Suc-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)MGW MDF-NH <sub>2</sub> ]

Compuesto N°	Familia	Nombre/Secuencia
5666	Amilina-sCT-amilina CCK8	[#NH-des-Lys1-Compuesto 10, amida] [#Suc-(bAla)-Phe(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H) <sub>2</sub> -des-MGWMDf-CCK-8, amida] [#NH-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub> ][#Suc-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)-NH <sub>2</sub> ]
5493	aMSH Exendin4	[Ac-alfa-MSH-(bAla)-(bAla)-K=Lys#] [Exendina-4-(1-28)-(bAla)-(bAla)-Lys(#Cys), amida] [Ac-SYSMEHFRWGKPV(beta-A)(beta-A)K#][HGEFTFTSDLKQMEEAVRLFIEWLKN(beta-A)(beta-A)K(#C)-NH <sub>2</sub> ]
5499	aMSH Amilina-sCT-amilina	Ac-alfa-MSH-bAla-bAla-Compuesto 10-amida Ac-SYSMEHFRWGKPV(beta-A)(beta-A)KCNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub>
5527	aMSH PYY(3-36)	[Ac-alfa-MSH-bAla-bAla-PYY-(3-36), amida] Ac-SYSMEHFRWGKPV(beta-A)(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRORY-NH <sub>2</sub>
5522	FN38 CCK8	[#S-Prp-(bAla)-FN38, amida] [#Mal-Bu-(bAla)-CCK8, amida] [#S-Prp-(beta-A)FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH <sub>2</sub> ][#Mal-Bu-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)MGWMDf-NH <sub>2</sub> ]
5528	FN38 Amilina-sCT-amilina	[#Suc-bAla-FN38, amida] [#NH-des-Lys1-Compuesto 10- amida] [#Suc-(beta-A)FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH <sub>2</sub> ][#NH-des-Lys1-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub> ]
5497	FN38 PYY(3-36)	[#S-Prp-(bAla)-FN38, amida] [#Mal-Bu-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#S-Prp-(beta-A)FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH <sub>2</sub> ][#Mal-Bu-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRORY-NH <sub>2</sub> ]
5561	PYY-NPY Amilina-sCT-amilina	[#Suc-Compuesto 4883, amida] [#NH-des-Lys1-Compuesto 10, amida] [#Suc-PKPEHPGEDASPEELARYYASLRAYINLITRORY-NH <sub>2</sub> ][#NH-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub> ]
5562	PYY-NPY Amilina-sCT-amilina	[#Suc-bAla-Compuesto 4883, amida] [#NH-des-Lys1-Compuesto 10, amida] [#Suc(beta-A)PKPEHPGEDASPEELARYYASLRAYINLITRORY-NH <sub>2</sub> ][#NH-CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub> ]
5582	Amilina-sCT-amilina PYY (3-36)	[#Des-Lys1 Compuesto 10, amida] [Asp(#)-Pro-Pro-Pro-Pro-Pro-PYY (3-36), amida] [#CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub> ][D(#)PPPPPIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRORY-NH <sub>2</sub> ]
5598	Amilina-sCT-amilina PYY(3-36)	[#Des-Lys1-Compuesto 10, amida] [Asp(#)-miniPEG3-Gly-PYY(3-36), amida] [#CNTATCVLGRLSQELHRLQTYPRNTGNTY-NH <sub>2</sub> ][D(#)-miniPEG3-GIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRORY-NH <sub>2</sub> ]
5454	PYY(3-36) CCK	[#Mal-Bu-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#S-Prp-(bAla)-CCK-8, amida] [#S-Prp-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)MGWMDf-NH <sub>2</sub> ][#Mal-Bu-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRORY-NH <sub>2</sub> ]

Compuesto N°	Familia	Nombre/Secuencia
5603	CCK8* PYY(3-36)	[#S-PrD-(bAla)-Phe(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H) <sub>2</sub> -CCK8-(1-2), amida] [#Mal-Bu-(bAla)-PYY(3-36), amida] [#S-Prp-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)-NH <sub>2</sub> ][#Mal-Bu-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ]
5604	CCK8* PYY(3-36)	[#S-Prp-(bAla)-Tyr <sub>2</sub> -CCK-8, amida] [#Mal-Bu-(bAla)-PYY(3-36), amida] [#S-Prp-(beta-A)DYMGWMDf-NH <sub>2</sub> ][#Mal-Bu-(beta-A)IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ]
5550	CCK-8 PYY-NPY	[#S-Prp-(bAla)-CCK-8, amida] [#Mal-Bu-(bAla)-Compuesto 4883, amida] [#S-Prp-(beta-A)DF(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> H)MGWMDf-NH <sub>2</sub> ][#Mal-Bu-(beta-A)PKPEHPGEDASPEELARYASLRAYINLITRQRY-NH <sub>2</sub> ]
5626	FN38 PYY-NPY	[#Suc-(bAla)- FN38, amida] [#NH-Gly-(bAla)-Compuesto 4883, amida] [#NH-G(beta-A)PKPEHPGEDASPEELARYASLRAYINLITRQRY-NH <sub>2</sub> ][#Suc-(bAla)FLFHYSKTQKLGKSNVVEELQSPFASQSRGYFLFRPRN-NH <sub>2</sub> ]
5567	PYY (3-36) PYY (3-36)	[#Cys-Gly-Gly-PYY (3-36), amida] [Asp(#)-Pro-Pro-Pro-Pro-Pro-PYY (3-36), amida] [#CGGIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY][D(#)-PPPPPIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY]
5568	PYY (3-36) PYY (3-36)	[Asp(#)-miniPEG-Gly-PYY (3-36), amida] [#Cys-Gly-Gly-PYY (3-36), amida] [#CGGIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY][D(#)-miniPEG-GIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY]
5581	PYY (3-36) PYY (3-36)	[#Cys-Gly-Gly-PYY (3-36), amida] [#Cys-Gly-Gly-PYY (3-36), amida] [#CGGIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY][D(#)-miniPEG-GIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY]
5425	PYY (3-36) PYY (3-36)	[#NH-Cys-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#Suc-(bAla)-PYY-(3-36), amida] [#NH-C(beta-A)IKPEAPGEDASPEENRYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ][#Suc-(beta-A)IKPEAPGEDASPEENRYASLRHYLNLVTRQRY-NH <sub>2</sub> ]

### Ejemplo 2. Ensayos de unión

- 5 Los polipéptidos híbridos de la invención pueden someterse a ensayo en diversos ensayos de unión a receptores usando metodologías de ensayo de unión generalmente conocidas por los expertos en la técnica. Dichos ensayos incluyen los descritos en este documento.

10 Ensayo de unión a amilina: la evaluación de la unión de algunos compuestos ejemplares de la invención a receptores de amilina puede realizarse en membranas del núcleo accumbens preparadas a partir de cerebro de rata de la siguiente manera. Ratas Macho Sprague-Dawley® (200-250 gramos) se sacrifican por decapitación. Los cerebros se extirpan y se colocan en solución salina tamponada con fosfato (PBS) enfriada. Desde la superficie ventral, se realizan cortes rostrales en el hipotálamo, unidos lateralmente por el tracto olfatorio y que se extienden formando un ángulo de 45° medialmente desde estos tractos. Este tejido prosencefálico basal, que contiene el

15 núcleo accumbens y las regiones circundantes, se pesa y se homogeneiza en tampón HEPES 20 mM (ácido HEPES 20 mM, pH ajustado a 7,4 con NaOH a 23 °C) enfriado con hielo. Las membranas se lavan tres veces en tampón reciente por centrifugación durante 15 minutos a 48.000 x g. El sedimento de membrana final se resuspende en tampón HEPES 20 mM que contiene fluoruro de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) 0,2 mM.

20

Para medir la unión a  $^{125}\text{I}$ -amilina (véase, Beaumont K *et al.* Can J Physiol Pharmacol. julio 1995; 73(7): 1025-9), las membranas de tejido de peso húmedo original de 4 mg se incuban con  $^{125}\text{I}$ -amilina a 12-16 pM en tampón HEPES 20 mM que contiene bacitracina 0,5 mg/ml, albúmina de suero bovino 0,5 mg/ml y PMSF 0,2 mM. Las soluciones se incuban durante 60 minutos a 2 °C. Las incubaciones finalizan por filtración a través de filtros de fibra de vidrio GF/B (Whatman Inc., Clifton, N. J.) que se sumergen previamente durante 4 horas en polietilenoamina al 0,3 % para reducir la unión no específica de péptidos radiomarcados. Los filtros se lavan inmediatamente antes de la filtración con 5 ml de PBS frío, e inmediatamente después de la filtración con 15 ml de PBS 15 frío. Los filtros se retiran y la radioactividad se evalúa en un contador gama a una eficiencia de recuento del 77 %. Se generan curvas de competición midiendo la unión en presencia de compuesto de ensayo no marcado de  $10^{-12}$  a  $10^{-6}$  M y se analizan por regresión no lineal usando una ecuación logística de 4 parámetros (programa Inplot; GraphPAD Software, San Diego).

Ensayo de unión a receptores de CGRP: la evaluación de la unión de los compuestos de la presente invención a receptores de CGRP es esencialmente como la que se describe para la amilina excepto que se usan membranas preparadas a partir de células SK-N-MC, que se sabe que expresan receptores de CGRP (Muff, R. *et al.*, Ann NY Acad. Sci. 1992: 657, 106-16). Los ensayos de unión se realizaron como se describe para la amilina excepto que se usaron  $^{125}\text{I}$ -hCGRP 13.500 cpm/pocillo o 21,7 pM/pocillo (Amersham).

Ensayo de unión a adrenomedulina: la unión al receptor de adrenomedulina puede investigarse usando células HUVEC que contienen el receptor de adrenomedulina (Kato J *et al.*, Eur J Pharmacol. 1995, 289: 383-5) usando el ensayo AlphaScreen™ de Perkin Elmer para AMP cíclico usando un óptimo de 25-30.000 células por pocillo. La elevación de los niveles de AMPc no es grande para las células HUVEC en comparación con las CHO. Así pues, pueden seleccionarse células CHO como un control negativo dado que, si se desea, no expresan el receptor de adrenomedulina.

Ensayo de unión al receptor de calcitonina: la unión al receptor de calcitonina puede investigarse usando células CHO o células T47D que, como se sabe en la técnica, también expresan el receptor de calcitonina (Muff R. *et al.*, Ann N Y Acad Sci. 1992, 657: 106-16 y Kuestner R. E. *et al.* Mol Pharmacol. 1994, 46: 246-55).

Ensayo de unión a leptina: para evaluar la unión a leptina y la activación del receptor (véase por ejemplo White, *et al.*, 1997. Proc.Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94: 10657-10662) se utilizan dos bioensayos *in vitro* rutinarios. Para medir la inhibición de la unión a Leptina, en ausencia o en presencia de leptina de ratón recombinante (control positivo) o péptido, a células COS-7 transfectadas con la forma larga (señalización) del receptor OB de ratón ("OB-RL") puede usarse una proteína de fusión de fosfatasa alcalina ("AP")-leptina ("OB") ("AP-OB"). Los ensayos de transducción de señal pueden realizarse en células GT1-7 cotransfectadas con construcciones de indicador AP y OB-RL. La actividad de la fosfatasa alcalina secretada ("SEAP") en respuesta a la estimulación con leptina de ratón o péptido puede medirse por quimioluminiscencia.

Ensayo de unión al receptor de Y1: se prepararon membranas de cultivos confluentes de células SK-N-MC que expresaban de manera endógena los receptores del neuropéptido Y1. Las membranas se incubaron con [ $^{125}\text{I}$ ]-Péptido YY humano (2200 Ci/mmol, Perkin Elmer Life Sciences) 60 pM, y con compuesto activo no marcado durante 60 minutos a temperatura ambiente en una placa de poliestireno de 96 pocillos. Después, el contenido de los pocillos se recogió en una placa de fibra de vidrio de 96 pocillos usando un recogedor de placa de Perkin Elmer. Las placas de fibra de vidrio secas se combinaron con centelleo y se contaron en un contador de centelleo de Perkin Elmer.

Ensayo de unión al receptor de Y2: se prepararon membranas de cultivos confluentes de células SK-N-BE que expresaban de manera endógena los receptores del neuropéptido Y2. Las membranas se incubaron con [ $^{125}\text{I}$ ]-Péptido YY humano (2200 Ci/mmol, PerkinElmer Life Sciences) 30 pM, y con compuesto activo no marcado durante 60 minutos a temperatura ambiente en una placa de poliestireno de 96 pocillos. Después, el contenido de los pocillos se recogió en una placa de fibra de vidrio de 96 pocillos usando un recogedor de placa de Perkin Elmer. Las placas de fibra de vidrio secas se combinaron con centelleo y se contaron en un contador de centelleo de Perkin Elmer.

Ensayo de unión al receptor de Y4: células CHO-K1 se transfectaron de manera transitoria con ADNc que codifica el gen del neuropéptido Y4, y después de 48 horas se prepararon membranas de cultivos de células confluentes. Las membranas se incubaron con [ $^{125}\text{I}$ ]-Polipéptido Pancreático humano (2200 Ci/mmol, PerkinElmer Life Sciences) 18 pM, y con compuesto activo no marcado durante 60 minutos a temperatura ambiente en una placa de poliestireno de 96 pocillos. Después, el contenido de los pocillos se recogió en una placa de fibra de vidrio de 96 pocillos usando un recogedor de placa de Perkin Elmer. Las placas de fibra de vidrio secas se combinaron con centelleo y se contaron en un contador de centelleo de Perkin Elmer.

Ensayo de unión al receptor de Y5: células CHO-K1 se transfectaron de manera transitoria con ADNc que codifica el gen del neuropéptido Y5, y después de 48 horas se prepararon membranas de cultivos de células confluentes. Las membranas se incubaron con [ $^{125}\text{I}$ ]-Péptido YY humano (2200 Ci/mmol, PerkinElmer Life Sciences) 44 pM, y con compuesto activo durante 60 minutos a temperatura ambiente en una placa de poliestireno de 96 pocillos. Después,



el contenido de los pocillos se recogió en una placa de fibra de vidrio de 96 pocillos usando un recogedor de placa de Perkin Elmer. Las placas de fibra de vidrio secas se combinaron con centelleo y se contaron en un contador de centelleo de Perkin Elmer.

5 Ensayo de unión al receptor de GLP-1: la actividad y la afinidad de unión al receptor de GLP-1 puede medirse usando un ensayo de desplazamiento de unión en el que la fuente receptora son membranas de células RINm5F, y el ligando es [<sup>125</sup>I]GLP-1. Las membranas de células RINm5F homogeneizadas se incubaron en tampón HEPES 20 mM con indicador [<sup>125</sup>I]GLP-1 40.000 rpm, y diversas concentraciones de compuesto de ensayo durante 2 horas a 23  
10 °C con mezcla constante. Las mezclas de reacción se filtraron a través de almohadillas de filtro de vidrio previamente empapadas con una solución PEI al 0,3 % y aclaradas con solución salina tamponada con fosfato enfriada en hielo. Los recuentos unidos se determinaron usando un contador de centelleo. Las afinidades de unión se calcularon usando el programa informático GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

15 En la siguiente tabla se muestra la unión al receptor y la activación del receptor *in vitro*, incluyendo la activación específica del receptor de los módulos componentes, para los híbridos ejemplares.

Comp. N°/Nombre	Unión al Receptor GLP-1	Amilina	CGRP	CT	Y2	Activación del Receptor GLP1 ciclasa	GLP-1/GIP/CT ciclasa	CT ciclasa	Y1	CCK
---Parental---										
Amilina de rata	>1000	0,05	21	3	>1000		5	326		
NPY Humano					0,2					
Comp. 10	>1000	0,03	2,3	0,03	>1000		1,4	0,7		1000
Exendina-4 amida	0,5	>1000	>1000	>1000			0,3	10000		1000
Exendina-(1-28) amida	0,6	>1000	>1000	>1000			0,8	tbid		
PYY(3-36)					0,08				874	1000
NMU 24 de rata										
CCK8 (Tirosina sulfatada)										7,8
FN-38										1000
CCK8										
---Híbridos---										
4240	1,7	0,6	178	0,5	>1000		8	28		
4277			4,4	0,04			1000			
NH2-HGEGTFRSDL SKQMEEEAV RLFIEWLKK ANTATAVLG -NH2	tbid	>1000	>1000	>1000			2,9	-		
4487	49		1000		1000			1000		42,1
4489	31				1000					229,5
5133	0,4	0,2	63	0,03			6,4	8		
5138	0,3	0,2	113	0,1			7,4	7,8		
5401				0,09	0,48			8,3		
5403				0,052	0,2			7,5		
5425				643	1,2			2271		
5426				46	0,39			645		
5453				6,6				108,3		
5454					98,9					83,3
5455										
5457				0,21				1,6		58
5493							13			
5497					0,163					
5498				0,5				0,8		57
5499				0,02				3		
5522										61,7

Comp. Nº/Nombre	Unión al Receptor GLP-1	Amilina	CGRP	CT	Y2	Activación del Receptor GLP1 ciclasa	GLP-1/GIP/CT ciclasa	CT ciclasa	Y1	CCK
5527					0,2					
5528								2,9		
5550					151,6					175
5561				0,11	2,3			27		
5562				0,084	1,3			3,7		
5567					0,8					
5568					0,8					
5581					0,8					
5582				0,064	0,5			10		
5598					0,3			7,6		
5603					12,2					1000
5604					44,8					1000
5626					0,2					
5666				0,16				0,43		1000

Ejemplo 3: ensayo de ingesta de alimento en ratón

5 Los polipéptidos híbridos de la invención pueden someterse a ensayo con respecto a la supresión de apetito en el ensayo de ingesta de alimento en ratón y con respecto a su efecto sobre el aumento de peso corporal en ratones con obesidad inducida por dieta (OID). A continuación se describen los protocolos experimentales de las exploraciones.

10 Ratones hembra NIH/Swiss (de 8-24 semanas de vida) se instalaron en grupos con un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 horas con encendido de luz a las 6 de la mañana. Salvo que se indique, tanto el agua como el pienso de ratón en gránulos convencional se encontraban disponibles a voluntad. Los animales se dejaron en ayunas comenzando aproximadamente a las 15 horas, 1 día antes del experimento. A la mañana del experimento, los animales se dividieron en grupos experimentales. En un estudio típico, n=4 jaulas con 3 ratones/jaula.

15 Al tiempo=0 min, todos los animales recibieron una inyección intraperitoneal de vehículo o compuesto, típicamente en una cantidad que variaba de aproximadamente 10 nmol/kg a 75 nmol/kg, e inmediatamente recibieron una cantidad previamente pesada de pienso convencional (10-15 g). Se retiró el alimento y se pesaron a diversos momentos, típicamente a los 30, 60 y 120 minutos, para determinar la cantidad de alimento consumido (Morley, Flood *et al.*, Am. J. Physiol. 267: R178-R184, 1994). La ingesta de alimento se calcula restando el peso del alimento sobrante, por ejemplo, en el momento de los 30, 60, 120, 180 y/o 240 minutos, del peso del alimento proporcionado inicialmente al tiempo=0. Los efectos de tratamiento significativos se identifican mediante ANOVA ( $p < 0,05$ ). Cuando existía una diferencia significativa, las medias de los ensayos se comparaban con las del control usando el ensayo de Dunnett (Prism v. 2.01, Programa informático GraphPad Inc., San Diego, California).

20 La actividad del ensayo de ingesta de alimento y la secuencia de las moléculas parentales usadas para la síntesis de híbridos del presente documento son:

25

Descripción	Compuesto nº	60 min DE50 (nmol/kg)	Secuencia	Ingesta de alimento en ratón, %				Dosis
				30 min	60 min	120 min	180 min	
PYY(3-36)	1	3	IKPEAPGEDASPEELN RYYASLRHYLNLVTR QRY-NH2 (SEC ID N°: 58)	-31	-38	-40	-26	10 nmol/kg
Exendina-4		5	HGEGFTSDLSKQME EEAVRLFIEWLKNNG PSSGAPPPS-NH2 (SEC ID N°: 66)	-41	-60	-61	-60	4,8 nmol/kg
Exendina-4 (1-28)	11	0.3	HGEGFTSDLSKQME EEAVRLFIEWLKN- NH2 (SEC ID N°: 237)	-50	-62	-49	-49	16,3 nmol/ kg
Exendina-4 (1-28) [Ala5, Leu14, Phe25]	12	13	HGEGFTSDLSKQLE EEAVRLFIEFLKN- NH2 (SEC ID N°: 240)	-53	-61	-50	-53	16,7 nmol/ kg
Amilina de Rata		9	KCNTATCATQRLANF LVRSSNNLGPVLPPTN VGSNTY-NH2 (SEC ID N°: 44)	-58	-40	-36.5	-35.5	25 nmol/kg
hAmilina(1-7)- <sup>11,16</sup> Arg-sCT(8-27)- Amilina(33-37)	10	26	KCNTATCVLGRLSQE LHRLQTYPRINTGNSN TY-NH2 (SEC ID N°: 396)	-60	-47	-42.5	-32	25 nmol/kg
CCK-8		26	DY(S03)MGWMDF- NH2 (SEC ID N°: 55)	-92	-56	-27		10 nmol/kg

Ejemplo 4: ensayos de peso corporal, redistribución de grasa y masa corporal magra

Los ensayos de peso corporal y sus efectos relacionados pueden realizarse de la siguiente manera.

5 La obesidad inducida por dieta (OID) en la rata Sprague-Dawley es un modelo valioso para estudiar la obesidad y la regulación de la homeostasis de energía. Estas ratas se desarrollaron a partir de una línea de ratas (Cri:CD®(SD)BR) que es propensa a la obesidad con una dieta relativamente alta en grasas y energía. Véase, por ejemplo, Levin (1994) Am. J. Physiol. 267: R527-R535, Levin *et al.* (1997) Am. J. Physiol. 273: R725-R730. Las ratas macho OID se obtuvieron en Charles River Laboratories, Inc. (Wilmington, MA). Las ratas se instalaron individualmente en cajas de cartón a 22 °C en un ciclo de luz:oscuridad de 12/12-horas. Las ratas se mantuvieron a voluntad con dieta moderadamente alta en grasas (32 % kcal de grasa; Research Diets D1226B). Generalmente, los animales alcanzaron un peso corporal medio de aproximadamente 500 g. Durante 7 días ratas OID Levin se familiarizaron al confinamiento. Durante las 3 noches de familiarización, los animales recibieron una sola inyección intraperitoneal (IP) de vehículo. El día del ensayo, las ratas recibieron una administración de una sola inyección IP de compuesto o vehículo (DMSO al 10 %) al inicio del ciclo de oscuridad durante 6-14 noches consecutivas. La ingesta de alimento se midió a través de un sistema automático que mide la ingesta de alimento (BioDAQ, Research Diets) a intervalos de 5 segundos durante todo el estudio. El peso corporal se registró todas las noches.

20 La composición corporal se midió antes y después del tratamiento con el fármaco usando RMN (Echo Medical Systems, Houston, TX). Para las mediciones de la composición corporal, las ratas se colocaron durante poco tiempo (~1 min) en un tubo plexiglás bien oxigenado que después se insertó en un aparato de RMN especial para roedores. Esto permitió calcular los cambios en gramos reales de tejido adiposo y tejido magro seco (por ejemplo gramos de grasa corporal después del tratamiento - gramos de grasa corporal al inicio = cambio en gramos de grasa corporal) y los cambios en % de composición corporal del tejido adiposo y magro seco (por ejemplo, % de grasa corporal después del tratamiento - % de grasa corporal al inicio = cambio en % de grasa corporal). Todos los datos se representaron como media ± ETM. Se usaron análisis de varianza (ANOVA) y ensayos *post-hoc* para ensayar las diferencias de grupos. Se consideró significativo un valor de P <0,05. Se realizaron análisis estadísticos y gráficos usando PRISM® 4 para Windows (Programa Informático GraphPad, Inc., San Diego, CA). En algunos estudios previos, se usó SYSTAT® para Windows (Programa Informático Systat, Inc., Point Richmond CA) en los análisis. Para los híbridos que contenían un aminomimético, una exendina, un análogo de PYY y/o una leptina, los cambios producidos en la grasa corporal no estaban acompañados por disminuciones significativas en tejido magro. Los gráficos y los resultados se presentan típicamente como cambios corregidos por vehículo en porcentaje de cambios de peso corporal, grasa corporal y proteína corporal.

35 En otros experimentos, ratones macho C57BL/6 (de 4 semanas de vida al inicio del estudio) se alimentaron con pienso de alto contenido en grasa (AG, 58 % de kcal de dieta como grasa) o de bajo contenido en grasa (BG, 11 % de kcal de dieta como grasa). Después de 4 semanas con el pienso, a cada ratón se le implantó una bomba osmótica (Alzet N° 2002) que durante dos semanas suministró, de manera continua, por vía subcutánea, una dosis predeterminada de polipéptido híbrido. Semanalmente se midieron el peso corporal y la ingesta de alimento (Surwit *et al.*, *Metabolism-Clinical and Experimental*, 44: 645-51, 1995). Los efectos del compuesto de ensayo (es decir, % de cambio de peso inicial) de al menos 14 ratones por grupo de tratamiento (p<0,05 ANOVA, ensayo Dunnett, Prism v. 2.01, Programa Informático GraphPad Inc., San Diego, California) se expresan como la medida +/- dt del % de cambio de peso corporal.

45 Híbridos de exendina/PYY. Los polipéptidos híbridos ejemplares de la divulgación se sintetizaron usando exendinas truncadas en el extremo C (por ejemplo, exendina-4(1-28) o <sup>5</sup>Ala,<sup>14</sup>Leu,<sup>25</sup>Phe-exendina-4(1-28)) y un PYY truncado en el extremo N que abarcaba las regiones 18-36 a 31-36. Así pues, los polipéptidos híbridos ejemplares comprenden generalmente dos módulos, siendo el primer módulo un fragmento de un análogo de exendina 4 y el segundo módulo un potenciador peptídico seleccionado de truncamientos de PYY. Por comparación, también se incorporaron espaciadores dipeptídicos de β alanina entre los bloques de construcción peptídicos en diversas variantes (véase la Tabla 4-1).

Tabla 4-1: Híbridos de exendina/PYY, datos de unión al receptor y sus efectos en el ensayo de ingesta de alimento

Descripción	Compuesto n°	Unión al Receptor (CI50) nM		Ingesta de Alimento en Ratón, % inicial			
		Y2	GLP1R	30 min	60 min	120 min	Dosis
PYY(3-36) (SEC ID N°: 58)		0,04		-31	-38	-40	-26
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-28) (SEC ID N°: 240)		-	1,9	-50	-62	49	-49
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-17)-PYY(18-36) (SEC ID N°: 16)	-	1,7	1000	-4	-11	-10	10 nmol/kg

Descripción	Compuesto nº	Unión al Receptor (CI50) nM		Ingesta de Alimento en Ratón, % inicial			
		Y2	GLP1R	30 min	60 min	120 min	Dosis
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-28)-PYY(22-36) (SEC ID Nº: 14)	-	17	2,1	21	9	-4	10 nmol/kg
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-28)-βAla-βAla-PYY(22-36) (SEC ID Nº: 17)	-	9	0,81	-3	-5	-22	10 nmol/kg
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-28)-PYY(25-36) (SEC ID Nº: 15)	2	nd	nd	8	-13	-30	10 nmol/kg
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-28)-βAla-βAla-PYY(25-36) (SEC ID Nº: 18)	3	13	0,22	-9	-25	-42	10 nmol/kg
<sup>5</sup> Ala, <sup>14</sup> Leu, <sup>25</sup> Phe-exendina-4(1-28)-βAla-βAla-PYY(31-36) (SEC ID Nº: 19)	4	1000	0,25	-14	-36	-52	10 nmol/kg
exendina-4(1-28)-PYY(25-36) (SEC ID Nº: 8)	-	16	0,29	-30	-37	-45	10 nmol/kg
exendina-4(1-28)-βAla-βAla-PYY(25-36) (SEC ID Nº: 5)	-	7,8	0,16	-24	-40	-52	10 nmol/kg
exendina-4(1-28)-βAla-βAla-PYY(31-36) (SEC ID Nº: 6)	-	1000	0,19	-49	-56	-61	10 nmol/kg

Como se muestra en la Tabla 4-1, determinados compuestos ejemplares de la divulgación mostraron eficacia en el ensayo de ingesta de alimento. También se ensayaron determinados péptidos a 75 nmol/kg en el ensayo OID y demostraron que eran más eficaces que PYY (Figura 1). Como se observa en otros híbridos del presente documento, los híbridos pueden conservar la unión a uno, dos o más receptores que reconocen las moléculas parentales. Se diseñaron híbridos que reconocían al menos un receptor de cada molécula parental o solo de una molécula parental, según se desease. Como se observaba en otros híbridos del presente documento, el uso de un enlazador (que puede actuar como un espaciador entre cada parte de hormona adyacente) puede proporcionar actividad, incluyendo la unión al receptor (o a receptores) y actividad *in vitro* e *in vivo*, tal como pérdida de peso, aumentadas. Los resultados del presente documento indican que una parte C-terminal de PYY puede modular la actividad.

Híbridos de exendina/amilina. Los polipéptidos híbridos ejemplares de la invención se prepararon a partir de péptidos de exendina (1-27) truncados en el extremo C (SEC ID Nº: 236), de amilina truncados en el extremo C (por ejemplo amilina(1-7) (SEC ID Nº: 217), <sup>2,7</sup>Ala-Amilina(1-7) (SEC ID Nº: 285) y fragmentos de Amilina(33-27) (SEC ID Nº: 243) y de sCT opcionales (por ejemplo, sCT(8-10), <sup>11,18</sup>Arg-sCT(8-27) (SEC ID Nº: 289) y <sup>14</sup>Glu,<sup>11,18</sup>Arg-sCT(8-27) (SEC ID Nº: 286). Aunque ambos polipéptidos híbridos eran muy activos en la supresión del apetito (véase la Tabla 4-2), superior a la misma dosis de la amilina de rata, la aparición de la acción difería de los perfiles de actividad de las moléculas parentales (datos no mostrados). A una dosis de 1 nmol/kg, el Compuesto 5 fue tan eficaz como la amilina de rata.

Tabla 4-2: Híbridos de exendina/amilina y su efecto en el ensayo de IA (ingesta de alimento)

Descripción	Comp. nº	Ensayo de Unión a Receptor				Ingesta de Alimento en Ratón % inicial			
		GLP-1	Amilina	CGRP	CT	30 min	60 min	120 min	Dosis
Exendina-4(1-27)-Amilina(1-7)- <sup>11,18</sup> Arg-sCT(8-27)-Amilina(33-37)	5 (SEC ID N°: 25)					-24	-40	-48	25 nmol/kg
Exendina-4(1-27)- <sup>2,7</sup> Ala-Amilina(1-7)-sCT(8-10)	6 (SEC ID N°: 26)					-40	-59	-66	25 nmol/kg
Exendina-4(1-28)-betaAla-betaAla-Amilina(1-7)-11,18Arg-sCT(8-27)-Amilina(33-37)	14 (SEC ID N°: 33)	0,3	0,2	113	0,1	-5	-30	-51	3 nmol/kg
Exendina-4(1-28)-Gly-Gly-Amilina(1-7)-11,18Arg-sCT(8-27)-Amilina(33-37)	15 (SEC ID N°: 312)	0,4	0,2	63	0,03	-8	-36	-51	3 nmol/kg
Exendina-4(1-27)-Amilina(1-7)-11,18Arg-sCT(8-27)-Amilina(33-37)	5 (SEC ID N°: 25)	1,7	0,6	178	0,5	-20	-10	-26	3 nmol/kg



Ambos compuestos también mostraron excelente eficacia cuando se exploraron en el ensayo OID (Figura 2).

Se ensayaron compuestos ejemplares adicionales para determinar su efecto sobre los niveles de glucemia en un ensayo de ingesta de alimento. Estos ensayos incluyeron los compuestos 14 y 15. El compuesto 14, que incluye un enlazador de betaAla, es <sup>29</sup>βAla-βAla-Exendina(1-28),hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37) (SEC ID N°: 33), (como alternativa escrito como Exendina(1-28)-βAla-βAla-hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37), mientras que el Compuesto 15 contenía un enlazador de Gly: <sup>29</sup>GlyGlyGly-Exendina(1-28),hAmilina(1-7)<sup>11,18</sup>Arg-sCt(8-27)-hAmilina(33-37) (SEC ID N°: 312). La exendina(1-28) más larga proporcionó mayor actividad en comparación con la exendina(1-27).

Se realizó un Ensayo de Glucemia para ensayar el efecto sobre niveles de hipoglucemia. Ratones hembra NIH/Swiss (de 8-20 semanas de vida) se instalaron en grupos con un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 horas con encendido de luces a las 6 de la mañana. Salvo que se indique, los ratones disponían a voluntad de agua y de una dieta de bolitas de pienso para ratón convencional. A la mañana del experimento, los animales se dividieron en grupos experimentales y se dejaron en ayunas comenzando aproximadamente a las 6:30 horas. En un estudio típico, n=2 jaulas con 3 ratones/jaula. En el momento=0 min, se tomó una muestra de glucosa en sangre e inmediatamente después se realizó una inyección intraperitoneal de vehículo o compuesto en una cantidad que variaba de aproximadamente 1 nmol/kg a 25 nmol/kg. A los 30, 60, 120, 180 y 240 minutos se midió la glucemia. El porcentaje del tratamiento previo se calculó dividiendo la glucemia, por ejemplo a los 30, 60, 120, 180 y/o 240 min., entre la glucemia en el tiempo=0 min. Se identificaron efectos de tratamiento significativos por ANOVA (p<0,05). Cuando existía una diferencia significativa, las medias del ensayo se comparaban con las medias del control usando el ensayo de Dunnett (Programa informático GraphPad Prism v. 2.01, Inc., San Diego, California). En la Figura 5A se presentan los resultados sobre los compuestos ejemplares. Los puntos representan la media ± dt. El péptido se inyectó, por vía intraperitoneal (IP) a t=0 inmediatamente después de la muestra inicial a ratones NIH/Swiss en ayunas durante 2 horas. Las muestras se tomaron a t= 30, 60, 120, 180 y 240 min. La glucemia se midió con un Ultra® OneTouch® (LifeScan, Inc., a Johnson & Johnson Company, Milpitas, CA). \* p<0,05 frente a control con vehículo; ANOVA, ensayo Dunnett.

Se realizó un ensayo de ingesta de alimento como se ha descrito anteriormente en el presente documento. En la Figura 5B se presentan los resultados. Los puntos representan la media ± dt de n=4 jaulas (3 ratones/jaula). El péptido se inyectó, por vía intraperitoneal (IP) a t=0, a ratones NIH/Swiss en ayunas durante toda la noche. El alimento se introdujo inmediatamente después de la inyección y la cantidad consumida se midió a t=30, 60 y 120 min. \* p<0,05 frente control con vehículo; ANOVA, ensayo Dunnett.

El Compuesto parental 10 y los compuestos de exendina tenían efectos opuestos en el Ensayo de Glucosa. Podría esperarse que juntándolos produjesen efectos neutralizantes o, en el mejor de los casos, una dilución del efecto observado con el compuesto parental más fuerte. Sin embargo, en el Ensayo de Glucosa, los compuestos híbridos ejemplares eran tan eficaces como la exendina(1-28) y tenían una duración de acción más prolongada.

A partir de los datos de ingesta de alimento, los compuestos ejemplares fueron anorexigénicos. La actividad era generalmente mejor que la de los compuestos parentales administrados individualmente. La actividad fue comparable a la de los compuestos parentales administrados juntos pero a la mitad de la concentración del fármaco (híbrido 3 nmol/kg frente a compuestos parentales codosificados 6 nmol/kg total); por tanto se demuestra adicionalmente la superioridad del híbrido. La adición de un enlazador aumenta la actividad de los híbridos. En este caso, el enlazador Gly-Gly-Gly fue más eficaz que el enlazador betaAla-betaAla.

Híbridos de exendina/CCK-8. Los polipéptidos híbridos ejemplares de la divulgación se prepararon a partir de exendina-4 de longitud completa o truncada en el extremo C unida al extremo N de CCK-8 bien directamente o a través de un enlazador, conservando la amida N terminal de la CCK-8. (Tabla 4-3). Además, se prepararon determinados híbridos incorporando Tyr(SO<sub>3</sub>) de origen natural, al mismo tiempo que se preparó otro híbrido que incorporaba el grupo Phe(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) más estable. Todos los polipéptidos híbridos preparados fueron activos inhibiendo la ingesta de alimento (Tabla 4-3).

Tabla 4-3: Híbridos de exendina/CCK-8 y su efecto en el ensayo de ingesta de alimento

Descripción	Comp. N°	Unión al Receptor (CI50) nM	Ingesta de Alimento en Ratón % inicial			
			30 min	60 min	120 min	Dosis
Exendina-4(1-28) amida	11 (SEC ID N°: 237)	0,63				
Exendina-4-CCK-8	- (SEC ID N°: 20)		-12	-28	-28	10 nmol/ kg
Exendina-4(1-28)-CCK-8	7 (SEC ID N°: 21)	75	-20	-36	-45	10 nmol/ kg
Exendina-4(1-28)-CCK-8	8 (SEC ID N°: 22)	31	-24	-47	-66	10 nmol/ kg

Descripción	Comp. Nº	Unión al Receptor (CI50) nM GLP1-R	Ingesta de Alimento en Ratón % inicial			
			30 min	60 min	120 min	Dosis
[Phe(CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> )]	22)					kg
Exendina-4(1-28)-[8-amino-3,6-dioxaoctanoil]-CCK-8	9 (SEC ID N°: 23)		-12	-28	-40	10 nmol/kg

Se ensayaron polipéptidos híbridos ejemplares de exendina/CCK-8 en el ensayo OID a 25 nmol/kg (Figuras 3A y 3B). Los datos muestran una pérdida de peso inicial, seguido de un efecto rebote en todos los compuestos. Cabe destacar que, el efecto rebote parece disminuir en híbridos que incorporan el resto de Phe(CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) hidrolíticamente más estable (compárense las Figuras 3A y 3C), así como en híbridos que incorporan un enlazador, por ejemplo, el enlazador 8-amino-3,6-dioxaoctanoilo, entre los restos de exendina y de CCK (compárense las Figuras 3A y 3B). Se necesitó producir una cantidad diez veces mayor de CCK-8 (250 nmol/kg/día) para producir un cambio de aproximadamente -2,8 % el día 2, que repercutió sobre el nivel de control de la dieta AG el día 7.

- 5
- 10 Híbrido de amilina/PYY. Se sintetizó un polipéptido híbrido de Amilina/PYY que contenía segmentos truncados de cada péptido. En la Tabla 4-4 se muestra la actividad *in vivo* en el ensayo de ingesta de alimento.

Tabla 4-4: Híbrido de Amilina/PYY

Descripción	Ingesta de Alimento Ratón % Inicial			
	30 min	60 min	120 min	Dosis
Amilina(1-18)-PYY(19-36) (SEC ID N°: 38)	-13	-14	-13	25 nmol/Kg

- 15 Para determinar si los polipéptidos híbridos ejemplares de la invención eran más fuertes que sus hormonas peptídicas componentes parentales, se ensayaron compuestos ejemplares en el ensayo de ingesta de alimento a una dosis eficaz mínima de la molécula parental más activa. Los resultados se muestran en las Figuras 4A y 4B, que también comparan los efectos de péptidos parentales agrupados (los Compuestos 1, 11 y 12 son hormonas peptídicas componentes, análogos o fragmentos de las mismas). Los datos indican que diversos péptidos son al menos tan equipotentes como los péptidos parentales agrupados. En paralelo con los estudios *in vivo*, para todos los compuestos (datos no mostrados) se habían realizado ensayos de unión a receptor *in vitro* y funcionales (actividad ciclasa).
- 20

- 25 Híbridos de amilina-sCT/leptina. Se prepararon híbridos ejemplares adicionales que contenían un fragmento peptídico de leptina unido al Compuesto 10, una quimera de amilina-sCT-amilina descrita en el presente documento. El compuesto 16 es [Ser117, dLeu119]leptina(116-122)-Amilina(1-7)-[<sup>11,18</sup>Arg]sCT(8-27)-Amilina(33-37) (SEC ID N°: 397). El compuesto se unió (EUR = ensayo de unión a receptor) a receptores de amilina y de CT, con alguna unión al receptor de CGRP. El compuesto también pudo activar al receptor de CT (ensayo C1A).

Compuesto	Comp. nº	Ensayo	CI50
[Ser117,dLeu119]leptina(116-122)-Amilina(1-7)-[ <sup>11,18</sup> Arg]sCT(8-27)-amilina(33-37) (SEC ID N°: 397)	16	EUR amilina	0,04 nM
	16	EUR CGRP	81 nM
	16	CT CICLASA(C1A)	2,2 nM
	16	EUR CT (C1A)	0,063 nM
	16	EUR GLP (RIN)	1000 nM

La actividad de esta molécula representativa se ensayó en un ensayo de ingesta de alimento como se describe en el presente documento. Aunque la leptina no fue activa en este ensayo, el Compuesto 16 fue anorexigénico a 1 mg/kg. El compuesto 16 también fue superior a la amilina de rata (a 25 nmol/kg) en su efecto anorexigénico. Aunque el Compuesto 10 redujo la ingesta de alimento un 91-95 % en comparación con los controles, de manera mucho más eficaz, el Compuesto 16 redujo la ingesta acumulativa al 34-38 % en comparación con los controles. Realizaciones ejemplares adicionales incluyen una unión cabeza con cabeza del extremo N del péptido de leptina con el del compuesto Amilina(1-7)-[<sup>11,18</sup>Arg]sCT(8-27)-amilina(33-37).

Híbridos de CCK/Amilina-sCT. Un híbrido ejemplar de CCK con una quimera de amilina-sCT demostró una especificidad y activación del receptor relevante. El compuesto ejemplar que tenía la secuencia DF(P-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>)MGWMDFGKR KCNTATCATQRLANELVRLQTYPRTNVGSNTY (SEC ID N°: 398) demostró una CI50 de 0,044 nM en un ensayo de unión al receptor de CT, de 4,4 nM en un ensayo de unión al receptor de CGRP, de 0,083 nM en un ensayo de unión al receptor de amilina y de 1000 nM en un ensayo de ciclaza del Receptor de GLP (RIN).

#### Ejemplo 5. Reducción de la ingesta de alimento, peso corporal y aumento de peso

Los polipéptidos híbridos ejemplares de la invención se ensayaron adicionalmente en ratones y ratas con respecto a la supresión de apetito, reducción de peso corporal y reducción de aumento de peso corporal como se describe en el presente documento. También se ensayaron compuestos parentales en solitario o en combinación. Las Figuras 9-21 demuestran acciones *in vivo* de híbridos ejemplares en los ensayos descritos en el presente documento.

En la siguiente tabla se muestra la actividad de inhibición *in vivo* de la ingesta de alimento en un ratón para híbridos ejemplares y sus compuestos parentales. Los valores se proporcionan como porcentaje de inhibición de la ingesta de alimento después de infusión durante los periodos de tiempo indicados. "ns" significa "no significativo" en comparación con vehículo.

Compuesto/Dosis	Momento (min)				
Amilina de Rata	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	46	35	21	17	7
250 nmol/kg	70	53	38	30	
300 nmol/kg	88	90	51	21	
NPY Humano					
37,5 nmol/kg	21	29	0	0	
Comp. 10	30	60	120	180	240
10 nmol/kg	24	26	27	21	
25 nmol/kg	57	46	31	19	9
30 mnol/kg	64	55	33		
100 nmol/kg	81	89	55		
300 nmol/kg	93	96	88		
Exendina-4 amida	30	60	120	180	240
3 nmol/kg	40	48	61		
10 nmol/kg	46	61	67	67	
30 nmol/kg	48	61	68		
Exendina-4 (1-28) amida	30	60	120	180	240
3 nmol/kg	7	24	16.3		
10 mnol/kg	23	41	41		
30 nmol/kg	34	51	60		
100 nmol/kg	45	60	72		

ES 2 537 062 T3

Compuesto/Dosis	Momento (min)				
300 nmol/kg	41	57	65		
PYY(3-36)	30	60	120	180	240
3 nmol/kg	n.s.	7.3	10	6	0
7,5 nmol/kg	32	39	34	31	
8 nmol/kg	48	40	20	13	
10 nmol/kg	28	36	38	30	30
25 nmo/kg	40	51	54	43	
30 nmol/kg	45	33	58	54	46
100 nmol/kg	41	35	56	56	52
300 nmol/kg	37	34	52	51	51
CCK8 Tyr sulfatada	30	60	120		
3 nmol/kg	49	26	0		
10 nmol/kg	92	56	27		
30 nmol/kg	92	73	43		
100 nmol/kg	100	78	59		
CCK8	30	60	120		
1000 µg/kg	ns	ns	ns		I
--HÍBRIDOS--					
4240	30	60	120	180	240
10 nmol/kg	37	50	60		
25 nmol/kg	24	40	48		
4277	30	60	120	180	240
172 nmol/kg (1000 µg/kg)	76	70	50		
NH2- HGEGTFTSDLKQ MEEEEAVRLFIEW LKKANTATAVLG -NH2	30	60	120	180	240
10 nmol/kg	33	49	57		
25 mnol/kg	40	59	66		
4487	30	60	120		
10 nmol/kg	0	36	45		
4489	30	60	120		
3 nmol/kg	ns	25	ns		
10 nmol/kg	ns	47	66		
5133	30	60	120	180	240
3 nmol/kg	7.5	36	51		
5138	30	60	120	180	240

ES 2 537 062 T3

Compuesto/Dosis	Momento (min)				
3 nmol/kg	4.7	30	38		
5401	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	32	52	59	57	
5403	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	52	68	65	55	
5425	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	8	27	31	18	
5426	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	49	66	55	45	
5453	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	55	66	71	61	
5454	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	39	33	28	20	
5455	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	28	33	39		
5457	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	ns	ns	ns		
5493	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	54	59	68	64	
5497	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	54	63	41	ns	
5498	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	ns	ns	ns	ns	
5499	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	40	32	25		
5522	30	60	120	180	240
25 nmol/kg					
5527	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	40	32	25		
5528	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	56	55	50		
5550	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	34	0		
5561	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	42	47		
5562	30	60	120	180	240
25 nmol/kg					
5567	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	0	0		
5568	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	39	48		
5581	30	60	120	180	240

ES 2 537 062 T3

Compuesto/Dosis	Momento (min)				
25 nmol/kg	0	45	32		
5582	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	58	57		
5598	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	50	58		
5603	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	0	0		
5604	30	60	120	180	240
25 nmol/kg	0	0	0		

En la siguiente tabla se muestra la actividad de inhibición del peso corporal *in vivo* en un modelo de ratón OID de los híbridos ejemplares y sus compuestos parentales. Se proporcionan valores como porcentaje de inhibición de peso corporal después de la infusión durante los periodos de tiempo indicados.

5

Compuesto	unidades	2	7	Día	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
AMILINA DE RATA	Nmol/kg/d														
30		1,9	1,5	2,1	2,1	2,5	2,2								
75		1,5	1,4	2,1											
100		1,6	1,8	3,1		3,8	4,4	6,9	8,6	9,6	10,4	10,3	11,4	12	13,4
300		1,1	-0,7	-0,9		-1,5	-1,5								
COMP. 10	nmol/kg/d	2	7												
150		2,2	-2,4												
EXENDINA-4	nmol/kg/d	2	7	14											
2,5		7	6,3	7,6											
PYY(3-36)	nmol/kg/d	2	7	14											
25			2,6	3,1											
75		4,6	4,7	5,9											
100		4,4	3,4	3,9											
250			9	10,1											
4240	nmol/kg/d	2	7												
75		9,6	10,1												
NH2-HGEG	nmol/kg/d	2	7												
TFTSD															
LSKQ															
MEEE															
AVRL															
FIWL															
KKAN															
TATA															
VLG-															
NH2															
75		11,6	12,1												



ES 2 537 062 T3

En la siguiente tabla se demuestra la actividad *in vivo* de la inhibición del peso corporal en un modelo de rata OID de los híbridos ejemplares y sus compuestos parentales. Se proporcionan valores como porcentaje de inhibición de peso corporal después de la infusión durante los periodos de tiempo indicados.

	Día												
Compuesto/Dosis (nmol/kg/d)	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
AMILINA DE RATA													
0,7		1,6	1,3	1,6	2,1								
1,8		2,2	2,2	2,2	2,2								
2,3		4	5,4	5,4	6,2								
5,6		2,9	3,9	4,2	4,8								
7		5,7	7,3	7,9	8,3								
18,4		5,9	7,5	6,7	6,5								
23		7,8	9,4	8,8	8,8	9,5	10	9,8	9,1				
69		7,6	9,3	11,1	12,2	14,4	14,9	15,4	15,7	16,2	15,8		
70		7,6	8,9	10,2	11,8								
	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
COMP. 10													
0,29		2,3	3,8										
0,9		5,1	7,1										
2,9		7,7	10,0	12,0	11,5	11,6	12,1	11,7	12,3				
7,5		11,6	14,9	17,9	19,5	20,8	22,1	23,3	24,2	26,2	26		
11	8,5	9,9											
69		11,5	13,7	15,6	17								
69		11,5	13,7	15,6	17								
	3	7	14	21	28								
EXENDINA-4(1-28)													
0,8		n.s.											
2,6		1,4	n.s.	n.s.	n.s.								
8		7,5	8,3	8,5	8,2								
11	6,5	6,8											
26		10,4	13	14,6	15,7								
	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
EXENDINA-4													
0,7		9,6	8,4	6,3	4,3								
2,4		12,1	10,8	10	8,4								
7		13,9	12,8	11,4	10,6								
6,3		12,2	13,7	14,4	14,4	19,1	18,6	18,9	18,5	19	18,1		
21		11,9	13,2	13,3	12,6								
NMU 24 de RATA													
300	2	7											
	2,3	1,6											
	3	7	14	21	28								
PYY(3-36)													
67		6,7	7,3	6,2	5,8								
67		5,5	7,3	7,8	9								
67		4,9	5,2	5	4,6								
FN-38													
300	2	7											
	3,7	2,7											
	3	7											
5138													
11		7,5	9,3										

En la siguiente tabla se demuestra la actividad *in vivo* de los híbridos ejemplares y sus compuestos parentales para la inhibición de peso corporal en un modelo de rata (inyección diaria). Se proporcionan valores como porcentaje de inhibición de peso corporal. Los valores en negrita indican que son significativos del vehículo.

	Dosis	Día 1	Día 5	Día 6	Día 7	Día 10	Día 14
AMILINA DE RATA	25 nmol/kg	NS	NS	NS	NS	NS	NS
COMP. 10	15 nmol/kg	1,7	3,0		3,2	4,5	6,2
EXENDINA-4	15 nmol/kg	2,8	6,1		7,8	9,3	12,0
5138	15 nmol/kg	1,3	5,2		5,8	7,9	10,7
5401	15 nmol/kg						
5403	15 nmol/kg						
5426	15 nmol/kg						
5454	15 nmol/kg						
5455	15 nmol/kg	0,7	2,6		3,2		
5493	15 nmol/kg	1	3,3		5,1		
5499	15 nmol/kg	0,5	0,9	1	1,3		
5568	15 nmol/kg	0,5	0,5		0,5		
5581	15 nmol/kg	0,6	0,8		1,2		
5582	15 nmol/kg	0,3	0,7	1	1		
5598	15 nmol/kg	0,7	1,7	2,5			

5 En la siguiente tabla se demuestra la actividad *in vivo* de la reducción de peso corporal y el aumento de peso corporal de los híbridos ejemplares y sus compuestos parentales para la inhibición de peso corporal en un modelo de rata tanto para infusión durante el periodo de tiempo indicado como para inyección diaria durante el periodo de tiempo indicado. Los valores se dan como porcentaje de inhibición de peso corporal. También se midió el porcentaje de inhibición de la ingesta de alimento durante un periodo de alimentación nocturna de 8 horas el Día 6. Se proporcionaron híbridos a 15 nmol/kg/día salvo que se indique otra cosa. Peso corporal: ~2 % la diferencia es estadísticamente significativa. Ingesta de alimento: ~20 % la diferencia es estadísticamente significativa.

10

		Infusión Sostenida	Inyección una vez al día	
		Pérdida de Peso 1 Semana	Pérdida de Peso 1 Semana	Inhib de IA a las 8 horas
Moléculas parentales				
Exendina	11 %		8 %	42 %-52 %
Amilina	6 %		0 %	0 %
Compuesto 10	11 %		3 %	32 %-57 %
PYY3-36	0-1 %		0 %	0 %
Compuesto 4883			nd	nd
PYY-				
Amilina				
5401	PYY-comp 10	8 %		
5403	PYY-comp 10	7 %		
5582	PYY-comp 10		1 %	15 %
5598	PYY-comp 10		3 %	54 %
5561	PYY/NPY-comp 10	7 %		
5562	PYY-NPY/cp10	9 %		
	PPY/NPY-amilina			
5426	PYY-amilina	1 %		
Exendina-amilina				
5138	EX-comp 10	10 % (11 nmol)	6 %	54 %
5133	EX-comp 10			
5454	EX-amilina	13 %	12 %	

15 Ejemplo 7. Disminución de glucemia

En la siguiente tabla se demuestra la actividad *in vivo* de los híbridos ejemplares y sus compuestos parentales para una disminución de glucemia en un ensayo oral de tolerancia a glucosa (EOTT) durante los periodos indicados en

ratas Levin. Los valores se proporcionan como porcentaje de reducción del nivel de glucemia. Los valores en negrita indican que son significativos del vehículo.

Compuesto	Dosis	Momento (día)	Inicial	% de Reducción			
				15	30	60	120
AMILINA DE RATA	23 nmol/kg/d	día 26	4	na	2,3	19,2	2,1
	69 nmol/kg/d	día 14	6	-0,2	11	5,9	1,2
COMP 10	11 nmol/kg/d	día 7	5,1	13	14	30	26
	69 nmol/kg/d	día 14	5	7	5,5	9,8	5,9
EXENDINA-4(1-28)	7,8 nmol/kg	día 26	11,6	na	-21,4	2	-1,5
	11 nmol/kg/d	día 7	15	-1	-8	5	-1
5138	11 nmol/kg/d	día 7	13	-1	2,6	14	16

#### 5 Ejemplo 8. Actividad de vaciado gástrico

En la siguiente tabla se demuestra la actividad *in vivo* de los híbridos ejemplares y sus compuestos parentales para el vaciado gástrico en ratas Levin durante los periodos de tiempo indicados. Los valores se proporcionan como porcentaje de inhibición de vaciado gástrico y porcentaje de acetaminofeno que ha pasado.

10

Compuesto	Dosis	tiempo de estudio	% pasado	% de inhibición
AMILINA DE RATA	69 nmol/kg/d	21 días	55	45
	100 µg/kg/d	26 días	76	24
COMP 10	69 nmol/kg/d	21 días	87	13
EXENDINA-4(1-28)	30 µg/kg/d	26 días	94	6

#### Ejemplo 9. Los polipéptidos PPF suprimen la ingesta de alimento aguda y crónica

15 Ratas hembra NIH/Swiss (de 8-24 semanas de vida) se instalaron en grupos con un ciclo de luz:oscuridad de 12:12 horas encendiéndose las luces a las 6 de la mañana. Los ratones disponían a voluntad de agua y de dieta de pienso de ratón en bolitas convencional excepto que se indique otra cosa. Los animales se dejaron en ayunas comenzando aproximadamente a las 15 horas, un día antes del experimento. A la mañana del experimento, los animales se dividieron en grupos experimentales. En un estudio típico, n=4 jaulas con 3 ratones/jaula.

20 En el tiempo=0 min, todos los animales recibieron una inyección intraperitoneal de vehículo o compuesto en una cantidad que variaba de aproximadamente 10 nmol/kg a 100 nmol/kg, e inmediatamente recibieron una cantidad previamente pesada (10-15 g) de pienso estándar. El alimento se retiró y se pesó a los 30, 60 y 120 min para determinar la cantidad de alimento consumido (Morley, Flood *et al.*, Am. J. Physiol. 267: R178-R184, 1994). Para los estudios de los efectos agudos de los polipéptidos PPF sobre la ingesta de alimento, la cantidad de alimento ingerido se calculó restando el peso del alimento sobrante a los 30, 60, 120 y 180 minutos, del peso del alimento proporcionado inicialmente al tiempo=0. De manera similar, la ingesta de agua se calculó restando el peso en gramos de agua restante en esos momentos del peso del agua en gramos proporcionado inicialmente. Para los estudios de los efectos de los polipéptidos PPF sobre la ingesta de alimento prolongada (crónica) y/o composición corporal, se midió la cantidad de alimento consumido durante un periodo de dos semanas. Para estos estudios de los efectos de los polipéptidos PPF sobre la ingesta de alimento prolongada y/o composición corporal, los ratones se instalaron individualmente en jaulas durante 1 semana antes de comenzar el tratamiento. A lo largo de los experimentos, la ingesta de alimento y el peso corporal se controlaron diariamente. Durante el periodo de tratamiento, se administró vehículo (dimetilsulfóxido al 50% en agua) y PYY(3-36) (1 mg/kg/día) por infusión subcutánea (s.c.) continua usando bombas osmóticas Alzet® (Durect Corp., Cupertino, CA; Models 1003D, 2001, & 2004 durante 3, 7 y 28 días de estudio respectivamente) colocadas en la región intraescapular con anestesia de isoflurano. Al final de cada estudio, los animales se sacrificaron después de un ayuno de 2-4 horas por sobredosis de isoflurano. La sangre se extrajo por punción cardiaca en jeringas lavadas con heparina sódica y el plasma se congeló inmediatamente. En algunos estudios, la composición corporal se determinó usando absorciometría de rayos X con energía doble (DEXA; PixiMus, GE Lunar). En algunos estudios, la composición corporal (tal como la cantidad de proteína y grasa) se midió antes y después del tratamiento usando un aparato de RMN para roedores (EchoMRI-700™), en el que los animales se disponen en un tubo de sujeción y se colocan en el aparato de RMN

40

durante 2 minutos y se cuantifica la cantidad de masa grasa y magra, en gramos. Se diseccionaron las almohadillas de grasa epididimal bilateral y el tejido adiposo marrón (TAM) intraescapular de los animales y se determinaron los pesos de estos órganos. Las muestras de hígado diseccionadas se colocaron en RNALater (Ambion, Austin, TX), y se conservaron a -20 °C.

5 Las Figuras 22-29 muestran la capacidad de las quimeras del polipéptido PPF, particularmente las quimeras PPY-NPY, por ejemplo, los Compuestos 4883 y 5705, para reducir la ingesta de alimento acumulativa en el ensayo de ingesta de alimento descrito anteriormente.

10 La Figura 22 muestra la reducción de la ingesta de alimento acumulativa tres horas después de la administración del Compuesto 5705 en comparación con solo vehículo. Las Figuras 23A y 24A muestran el cambio en la ingesta de alimento (gramos) y las Figuras 23B y 24B muestran el cambio de peso corporal (cambio en porcentaje de peso corporal corregido con vehículo), en ratones a los que se administraba de manera continua vehículo o los Compuestos 4883 o 5705 (a dosificaciones de 500 µg/kg/d) durante 13 días. Tan pronto como el día uno después de  
15 comenzar la administración del polipéptido PPF, parecía que había una tendencia de una reducción de ingesta de alimento y peso corporal en los animales tratados con el Compuesto 4883 o Compuesto 5705.

Las Figuras 25 y 26 muestran los cambios en la ingesta de agua y producción de orina diaria después de la administración del Compuesto 4883 o Compuesto 5705 en ratones que se administraba de manera continua  
20 vehículo o los Compuestos 4883 o 5705 (a dosificaciones de 500 µg/kg/d) durante 13 días.

La Figura 27 muestra los efectos de la administración continua de vehículo o de los Compuestos 4883 o 5705 (a dosificaciones de 500 µg/kg/d) durante 13 días sobre la composición corporal evaluada por NMR. Las Figuras 28A y 28B muestran cambios de agua medidos en gramos así como el porcentaje en ratones a los que se administraba de  
25 manera continua vehículo o los Compuestos 4883 o 5705 (a dosificaciones de 500 µg/kg/d) durante 13 días.

La Figura 29 muestra los efectos de 14 días de administración continua de los Compuestos 4883 o 5705 (a dosificaciones de 500 µg/kg/d) sobre los electrolitos de la orina.

30 Aunque la presente invención se ha descrito en términos de ejemplos y realizaciones preferidos(as), se entiende que los expertos realizarán variaciones y modificaciones. Por lo tanto, se pretende que las reivindicaciones adjuntas incluyan todas dichas variaciones equivalentes que se encuentran dentro del ámbito de la invención tal como se reivindica.

### 35 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> LEVY, ODILE ESTHER HANLEY, MICHAEL R. JODKA, CAROLYN M. LEWIS, DIANA Y. SOARES, CHRISTOPHER J. GHOSH, SOUMITRA S. D'SOUZA, LAWRENCE J. PARKES, DAVID MACK, CHRISTINE M. FOROOD, BRUCE B.

40 <120> POLIPÉPTIDOS HÍBRIDOS CON PROPIEDADES SELECCIONABLES

<130> 0701WO2

45 <140> 11/201.664  
<141> 11-08-2005

<140> 11/206.903  
<141> 17-08-2005

50 <140> 11/301.744  
<141> 12-12-2005

<160> 457

55 <170> PatentIn Ver. 3.3

<210> 1  
<211> 54  
60 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>

65 <223> Descripción de la secuencia artificial: construcción quimérica de lagarto y de ser humano

ES 2 537 062 T3

<220>  
<223> C-term amidado

5 <400> 1

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu  
 35 40 45  
 Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 50

10 <210> 2  
<211> 51  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: construcción quimérica de lagarto y de ser humano

20 <220>  
<223> C-term amidado

20 <400> 2

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg  
 35 40 45  
 Gln Arg Tyr  
 50

25 <210> 3  
<211> 58  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: construcción quimérica de lagarto y de ser humano

35 <220>  
<223> C-term amidado

35 <400> 3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His  
 35 40 45  
 Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 50 55

40 <210> 4  
<211> 56

ES 2 537 062 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: construcción quimérica de lagarto y de ser humano

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(41)  
 <223> Beta-alanina

15 <220>  
 <223> C-term amidado  
 <400> 4

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa Xaa Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu  
 35 40 45  
 Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 50 55

20 <210> 5  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(41)  
 <223> Beta-alanina

35 <220>  
 <223> C-term amidado  
 <400> 5

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa Xaa Arg His Tyr Leu Asn Leu Val  
 35 40 45  
 Thr Arg Gln Arg Tyr  
 50

40 <210> 6  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(41)  
 <223> Beta-alanina

5

<220>  
 <223> C-term amidado

<400> 6

10

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa Xaa Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40 45

<210> 7  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

20

<220>  
 <223> C-term amidado

<400> 7

25

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Ala Ser Leu Arg  
 20 25 30  
 His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40

<210> 8  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

35

<220>  
 <223> C-term amidado

<400> 8

40

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Arg His Tyr Leu  
 20 25 30  
 Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40

<210> 9  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>

ES 2 537 062 T3

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

<220>

<223> C-term amidado

5

<400> 9

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Asn Arg Tyr Tyr
          20          25
Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
          35          40          45
    
```

10

<210> 10

<211> 45

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

<220>

<221> MOD\_RES

20

<222> (29)..(30)

<223> Beta-alanina

<220>

<223> C-term amidado

25

<400> 10

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Ala Ser
          20          25          30
Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
          35          40          45
    
```

30

<210> 11

<211> 42

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

<220>

<221> MOD\_RES

40

<222> (29)..(30)

<223> Beta-alanina

<220>

<223> C-term amidado

45

<400> 11

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1          5          10          15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Arg His
          20          25          30
Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
          35          40
    
```



ES 2 537 062 T3

<210> 12  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano  
  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> Beta-alanina  
  
 15 <220>  
 <223> C-term amidado  
  
 <400> 12  
  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35  
  
 <210> 13  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano  
  
 30 <220>  
 <223> C-term amidado  
  
 <400> 13  
  
 His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Asn Arg Tyr Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40 45  
  
 <210> 14  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 40 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano  
  
 45 <220>  
 <223> C-term amidado  
  
 <400> 14

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Ala Ser Leu Arg  
 20 25 30  
 His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40

5  
 <210> 15  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano  
 <220>  
 <223> C-term amidado

15  
 His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Arg His Tyr Leu  
 20 25 30  
 Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40

20  
 <210> 16  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano  
 <220>  
 <223> C-term amidado

30  
 His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

35  
 <210> 17  
 <211> 45  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> Beta-alanina

45  
 <220>  
 <223> C-term amidado

ES 2 537 062 T3

<400> 17

```

His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1      5      10      15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Xaa Xaa Ala Ser
      20      25      30
Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
      35      40      45
    
```

5 <210> 18  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 15 <222> (29)..(30)  
 <223> Beta-alanina

<220>  
 <223> C-term amidado

20 <400> 18

```

His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1      5      10      15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Xaa Xaa Arg His
      20      25      30
Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr
      35      40
    
```

25 <210> 19  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 35 <222> (29)..(30)  
 <223> Beta-alanina

<220>  
 <223> C-term amidado

40 <400> 19

```

His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu
 1      5      10      15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Xaa Xaa Val Thr
      20      25      30
Arg Gln Arg Tyr
      35
    
```

45 <210> 20  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 537 062 T3

<220>  
<223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

5     <220>  
      <221> MOD\_RES  
      <222> (41)  
      <223> Tyr (S03)

10    <220>  
      <223> C-term amidado

      <400> 20

          His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
              1                          5                  10                          15

          Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
                          20                          25                          30

15     Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
                          35                          40                          45

      <210> 21  
      <211> 36  
      <212> PRT  
20    <213> Secuencia artificial

      <220>  
      <223> Descripción de la secuencia artificial: construcción quimérica de lagarto y de ser humano

25    <220>  
      <221> MOD\_RES  
      <222> (30)  
      <223> Tyr(S03)

30    <220>  
      <223> C-term amidado

      <400> 21

          His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
              1                          5                  10                          15

          Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Asp Tyr Met Gly  
                          20                          25                          30

35     Trp Met Asp Phe  
                          35

      <210> 22  
      <211> 36  
      <212> PRT  
40    <213> Secuencia artificial

      <220>  
      <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

45    <220>  
      <221> MOD\_RES  
      <222> (30)  
      <223> Phe(CH2SO3)

50    <220>  
      <223> C-term amidado

      <400> 22

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Asp Phe Met Gly  
 20 25 30  
 Trp Met Asp Phe  
 35

5 <210> 23  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 8-amino-3,6-dioxaoctanoílo

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (31)  
 <223> Tyr(S03)

25 <220>  
 <223> C-term amidado

<400> 23

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Asp Tyr Met  
 20 25 30  
 Gly Trp Met Asp Phe  
 35

30 <210> 24  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto y de ser humano

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 8-amino-3,6-dioxaoctanoílo

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (31)  
 <223> Phe(CH2SO3)

50 <220>  
 <223> C-term amidado

<400> 24

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Asp Phe Met  
 20 25 30  
 Gly Trp Met Asp Phe  
 35

5 <210> 25  
 <211> 59  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 <220>  
 <223> C-term amidado

15 <400> 25

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Lys Cys Asn Thr Ala  
 20 25 30  
 Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr  
 35 40 45  
 Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55

20 <210> 26  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 <220>  
 <223> C-term amidado

30 <400> 26

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Lys Ala Asn Thr Ala  
 20 25 30  
 Thr Ala Val Leu Gly  
 35

35 <210> 27  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 12-Ado

45 <220>

ES 2 537 062 T3

<223> C-term amidado

<400> 27

5 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
 20 25 30  
 Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu  
 35 40 45  
 Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

<210> 28

<211> 60

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (29)

20 <223> 12-Ado

<220>

<223> C-term amidado

<400> 28

25 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
 20 25 30  
 Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln  
 35 40 45  
 Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

<210> 29

<211> 61

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

35 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (29)

40 <223> 3,6-dioxaoctanoilo

<220>

<223> C-term amidado

<400> 29

45

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
 20 25 30  
 Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu  
 35 40 45  
 Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

5 <210> 30  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 3,6-dioxaoctanoilo  
 15 <220>  
 <223> C-term amidado  
 <400> 30

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
 20 25 30  
 Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln  
 35 40 45  
 Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

20 <210> 31  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 5-Apa  
 35 <220>  
 <223> C-term amidado  
 <400> 31



ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
 20 25 30  
 Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu  
 35 40 45  
 Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

5 <210> 32  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 5-Apa  
 15 <220>  
 <223> C-term amidado

20 <400> 32  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
 20 25 30  
 Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln  
 35 40 45  
 Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

25 <210> 33  
 <211> 62  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> Beta-alanina  
 35 <220>  
 <223> C-term amidado

40 <400> 33  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Lys Cys  
 20 25 30  
 Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg  
 35 40 45  
 Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

ES 2 537 062 T3

5 <210> 34  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> Beta-alanina

15 <220>  
 <223> C-term amidado

<400> 34

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1      5      10      15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Cys Asn
 20      25      30
Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu
 35      40      45
Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
 50      55      60
  
```

20

25 <210> 35  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 <223> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidílo

35 <220>  
 <223> C-term amidado

<400> 35

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1      5      10      15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn
 20      25      30
Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu
 35      40      45
Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr
 50      55      60
  
```

40

45 <210> 36  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de lagarto, de ser humano y de salmón

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)  
 5 <223> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidílo  
  
 <220>  
 <223> C-term amidado  
 10 <400> 36  
  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
   1                                  5                                  10                                  15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
                   20                                  25                                  30  
 Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln  
                   35                                  40                                  45  
 Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
           50                                  55                                  60  
  
 <210> 37  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de ser humano y de salmón  
 20  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)  
 25 <223> Tyr(SO3)  
  
 <220>  
 <223> C-term amidado  
 30 <400> 37  
  
 Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe Gly Lys Arg Lys Cys Asn Thr Ala  
   1                                  5                                  10                                  15  
 Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Glu Leu Val Arg Leu Gln Thr  
                   20                                  25                                  30  
 Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr  
                   35                                  40  
  
 <210> 38  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
  
 <220>  
 <223> C-term amidado  
 40  
  
 <400> 38  
  
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
   1                                  5                                  10                                  15  
 Val Arg Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
                   20                                  25                                  30  
  
 Arg Gln Arg Tyr  
           35

45

<210> 39  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)  
 <223> Isocaproil-Ser  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (6)  
 <223> Aib  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)  
 <223> Lys(formilo)  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (13)  
 <223> Aib  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)  
 <223> Lys(formilo)  
 35  
 <220>  
 <223> C-term amidado  
 <400> 39  
  
 Ser Thr Ala Val Leu Xaa Lys Leu Ser Gln Glu Leu Xaa Lys Leu Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35  
 40  
 <210> 40  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: polipéptido sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)  
 <223> Isocaproil-Ser  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (6)  
 <223> Aib  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES

ES 2 537 062 T3

<222> (7)  
 <223> Lys(formilo)

5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (13)  
 <223> Aib

10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (14)  
 <223> Lys(formilo)

15  
 <220>  
 <223> C-term amidado

<400> 40

Ser Thr Ala Val Leu Xaa Lys Leu Ser Gln Glu Leu Xaa Lys Leu Glu  
   1          5          10          15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
           20          25          30  
 Arg Gln Arg Tyr  
           35

20  
 <210> 41  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)  
 <223> Extremo amidado

30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)  
 <223> Tyr Sulfonatada

35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (9)  
 <223> Succinóil-Cys

40  
 <400> 41

Phe Asp Met Trp Gly Met Tyr Asp Cys Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly  
   1          5          10          15  
 Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg  
           20          25          30  
 His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
           35          40

45  
 <210> 42  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)  
 <223> extremo amidado

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)  
 <223> Tyr Sulfonatada  
 5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (9)  
 <223> Bis-Cys(N-Acetilo)  
 10

<400> 42

Phe Asp Met Trp Gly Met Tyr Asp Cys Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg  
 20 25 30  
 His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40

15 <210> 43  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)  
 <223> Extremo amidado

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)  
 <223> Tyr sulfonatada

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (9)  
 <223> Gly-Aminoximetilcarbonilo

35 <220>  
 <223> C-term amidado

<400> 43

Phe Asp Met Trp Gly Met Tyr Asp Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg  
 20 25 30  
 His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35 40

40 <210> 44  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus sp.*

<400> 44

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

50

ES 2 537 062 T3

<210> 45  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 5 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 45  
  
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35  
 10  
 <210> 46  
 <211> 52  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 46  
  
 Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln  
 20 25 30  
 Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Gly Tyr  
 50  
 20  
 <210> 47  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*  
 25 <400> 47  
  
 Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu  
 1 5 10 15  
 His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
 20 25 30  
 30  
 <210> 48  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 48  
 35  
 Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe  
 1 5 10 15  
 Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro  
 20 25 30  
 40  
 <210> 49  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 49

ES 2 537 062 T3

Ala Cys Asp Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Val Val Lys Asn Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Ala Phe  
 35

5 <210> 50  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 50

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Ala Phe  
 35

10 <210> 51  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 51

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln  
 1 5 10 15  
 Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly  
 20 25 30  
 Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45

20 <210> 52  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 52

Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg  
 1 5 10 15  
 Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val  
 20 25 30  
 Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40

30 <210> 53  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <400> 53

Pro His Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln  
 1 5 10 15  
 Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Val Arg Pro Ala Gly  
 20 25 30  
 Arg Arg Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45



ES 2 537 062 T3

5 <210> 54  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

<400> 54

Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg  
1 5 10 15  
Leu Trp Gln Leu Val Arg Pro Ala Gly Arg Arg Asp Ser Ala Pro Val  
20 25 30  
Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
35 40

10  
15 <210> 55  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

20 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)  
<223> Tyr(SO3)

<400> 55

Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

25 <210> 56  
<211> 167  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 56

ES 2 537 062 T3

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

5 <210> 57  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 57

Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

10  
 15 <210> 58  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 58

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln  
 20 25 30  
 Arg Tyr

20  
 25 <210> 59  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 59

ES 2 537 062 T3

His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Thr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu  
 20 25 30  
 Val Lys Gly Arg Gly  
 35

5 <210> 60  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Xenopus laevis*

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (37)  
 <223> Ser-OH

<400> 60

His Ala Glu Gly Thr Tyr Thr Asn Asp Val Thr Glu Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Ile Lys Gly Lys Pro Lys  
 20 25 30  
 Lys Ile Arg Tyr Ser  
 35

20 <210> 61  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 61

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg  
 20 25 30

30 <210> 62  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 62

His Ala Asp Gly Ser Phe Ser Asp Glu Met Asn Thr Ile Leu Asp Asn  
 1 5 10 15  
 Leu Ala Ala Arg Asp Phe Ile Asn Trp Leu Ile Glu Thr Lys Ile Thr  
 20 25 30  
 Asp

35 <210> 63  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Xenopus sp.*

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (31)  
 <223> Pro-OH

45 <400> 63

ES 2 537 062 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Asn Asp Met Thr Asn Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15

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

5 <210> 64  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 64

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn  
 20 25 30

10 Arg Asn Asn Ile Ala  
 35

15 <210> 65  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*

<400> 65

His Ser Asp Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

20 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

25 <210> 66  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*

<400> 66

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

30 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

35 <210> 67  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 67

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15

Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

ES 2 537 062 T3

<210> 68  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 68  
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35  
 10  
 <210> 69  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 69  
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35  
 20  
 <210> 70  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 70  
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35  
 30  
 <210> 71  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 71  
 35  
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35  
 40  
 <210> 72  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 72

ES 2 537 062 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr

35

5 <210> 73  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 73

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 Arg Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35

10 <210> 74  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 74

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35

20 <210> 75  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 75

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

30 <210> 76  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>  
 <223> puente 2,7-ciclo

<400> 76

ES 2 537 062 T3

Lys Asp Asn Thr Ala Thr Lys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 77  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 77

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35

10 <210> 78  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 78

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

20 <210> 79  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 79

Lys Ala Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

30 <210> 80  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 80

Lys Ala Asn Thr Ala Thr Ala Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

ES 2 537 062 T3

<210> 81  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 5 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 81  
  
     Ser Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
       1                  5                  10                  15  
     Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
                   20                  25                  30  
     Gly Ser Asn Thr Tyr  
                   35  
 10  
 <210> 82  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 82  
  
     Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
       1                  5                  10                  15  
     Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Pro Thr Asn Val  
                   20                  25                  30  
     Gly Ser Asn Thr Tyr  
                   35  
 20  
 <210> 83  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25 <400> 83  
  
     Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
       1                  5                  10                  15  
     Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val  
                   20                  25                  30  
     Gly Ser Asn Thr Tyr  
                   35  
 30  
 <210> 84  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 84  
  
     Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
       1                  5                  10                  15  
     His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val Gly  
                   20                  25                  30  
     Ser Asn Thr Tyr  
                   35  
 40  
 <210> 85  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 85



ES 2 537 062 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 86  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 86

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

15 <210> 87  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 87

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Ser Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35

20 <210> 88  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 88

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

30 <210> 89  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 89

ES 2 537 062 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 90  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 90

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

10 <210> 91  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*

<400> 91

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Ile His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

20 <210> 92  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 25 <213> *Homo sapiens*

<400> 92

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Ile His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

30 <210> 93  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 93

ES 2 537 062 T3

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Ile  
 1 5 10 15  
 His Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 94  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 94

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Ile Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

10 <210> 95  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 95

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Ile Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Ala Val Leu Ser Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

15 <210> 96  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 96

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Ile Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

20 <210> 97  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 97

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Leu Pro Thr Asp Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

ES 2 537 062 T3

5 <210> 98  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 98

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Ser Leu Pro Thr Asp Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

10

<210> 99  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 99

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu Val  
 1 5 10 15  
 His Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Pro Ser Thr Asp Val Gly  
 20 25 30  
 Ser Asn Thr Tyr  
 35

20

<210> 100  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 100

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ala Leu Ser Pro Thr Asp Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

30

<210> 101  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 101

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Ala Ile Leu Pro Pro Thr Asp Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

40

<210> 102  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 102

ES 2 537 062 T3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Thr Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val Arg Ser Ser His Asn Leu Gly Pro Ala Leu Pro Pro Thr Asp Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

5 <210> 103  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *oncorhynchus sp.*

10 <400> 103  
 Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Gly Leu Gly Lys Leu Ser Glu Glu Leu  
 1 5 10 15  
 His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Arg  
 20 25 30

15 <210> 104  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

<400> 104  
 Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Glu Glu Leu  
 1 5 10 15  
 His Lys Leu Gln Thr Leu Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Arg  
 20 25 30

25 <210> 105  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

<400> 105  
 Cys Gly Ser Leu Ser Thr Cys Gly Leu Gly Lys Leu Ser Glu Glu Leu  
 1 5 10 15  
 His Lys Leu Gln Thr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Arg  
 20 25 30

35 <210> 106  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

<400> 106  
 Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Glu Glu Leu  
 1 5 10 15  
 His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
 20 25 30

40 <210> 107  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

45 <400> 107

ES 2 537 062 T3

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Gln Glu Leu  
 1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
 20 25 30

5 <210> 108  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

<400> 108

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu  
 1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
 20 25 30

10 <210> 109  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

<400> 109

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Lys Leu Ser Glu Glu Leu  
 1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
 20 25 30

15 <210> 110  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*

<400> 110

Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu  
 1 5 10 15

His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Gly Thr Pro  
 20 25 30

20 <210> 111  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (36)  
 <223> D-Ser

<400> 111

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15

Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30

Gly Ser Lys Ser Phe  
 35

30 <210> 112  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (36)  
 5 <223> D-Thr  
  
 <400> 112  
  
 Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
   1          5          10          15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
           20          25          30  
 Gly Ser Lys Thr Phe  
           35  
 10  
 <210> 113  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (36)  
 20 <223> D-Asp  
  
 <400> 113  
  
 Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
   1          5          10          15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
           20          25          30  
 Gly Ser Lys Asp Phe  
           35  
 25  
 <210> 114  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (36)  
 <223> D-Asn  
 35  
 <400> 114  
  
 Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
   1          5          10          15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
           20          25          30  
 Gly Ser Lys Asn Phe  
           35  
 40  
 <210> 115  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 115

ES 2 537 062 T3

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Ser Phe  
 35

5 <210> 116  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (36)  
 <223> Hse

<400> 116

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Xaa Phe  
 35

15 <210> 117  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 117

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Asp Phe  
 35

25 <210> 118  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 118

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Thr Phe  
 35

35 <210> 119  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 119



ES 2 537 062 T3

Ala Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Thr His Arg Leu Ala Gly Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Arg Ser Gly Gly Met Val Lys Ser Asn Phe Val Pro Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Lys Asn Phe  
 35

5 <210> 120  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 120

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys  
 1 5 10 15  
 Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala  
 20 25 30  
 Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45

10 <210> 121  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 121

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Asp Thr Ala Thr Cys Gln  
 1 5 10 15  
 Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly  
 20 25 30  
 Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45

20 <210> 122  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 122

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Met Val Leu Gly Thr Met Gln  
 1 5 10 15  
 Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly  
 20 25 30  
 Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45

30 <210> 123  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

35 <400> 123

ES 2 537 062 T3

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln  
 1 5 10 15

Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly  
 20 25 30

Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45

5 <210> 124  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 124

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln  
 1 5 10 15

Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly  
 20 25 30

Arg Gln Glu Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40 45

10  
 15 <210> 125  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 125

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln  
 1 5 10 15

Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Arg Gln Asp Ser Ala  
 20 25 30

Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40

20  
 25 <210> 126  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 126

Thr Gln Ala Gln Leu Leu Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln  
 1 5 10 15

Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Asp Ser Ala Pro Val  
 20 25 30

Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40

30 <210> 127  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

35 <400> 127

ES 2 537 062 T3

Arg Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro  
 20 25 30  
 Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr

35

40

5 <210> 128  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 128

Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg  
 1 5 10 15  
 Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val  
 20 25 30  
 Glu Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35 40

10

15 <210> 129  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 129

Val Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg  
 1 5 10 15  
 Leu Trp Gln Leu Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro  
 20 25 30  
 His Ser Tyr  
 35

20

25 <210> 130  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 130

Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu  
 1 5 10 15  
 Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp  
 20 25 30  
 Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35

30

35 <210> 131  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 131

ES 2 537 062 T3

Gly Cys Asn Thr Ala Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu  
 1 5 10 15

Trp Gln Leu Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His  
 20 25 30

Ser Tyr

5 <210> 132  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 132

Gly Cys Asn Thr Ala Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu  
 1 5 10 15

Trp Gln Leu Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro His  
 20 25 30

Ser Tyr

10 <210> 133  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 15 <213> *Mus musculus*

<400> 133

Gly Cys Ser Asn Leu Ser Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg  
 1 5 10 15

Leu Trp Gln Leu Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro  
 20 25 30

His Ser Tyr  
 35

20 <210> 134  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 25 <213> *Mus musculus*

<400> 134

Gly Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg  
 1 5 10 15

Leu Trp Gln Leu Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro  
 20 25 30

His Ser Tyr  
 35

30 <210> 135  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<400> 135

Gly Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu  
 1 5 10 15

Trp Gln Leu Arg Gln Glu Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro His  
 20 25 30

Ser Tyr

<210> 136

ES 2 537 062 T3

<211> 38  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5 <400> 136

Cys Val Leu Gly Thr Cys Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro  
 20 25 30  
 Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 35

<210> 137  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10

<400> 137

15

Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala  
 1 5 10 15  
 Gly Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 20 25 30

<210> 138  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

20

<400> 138

Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly  
 1 5 10 15  
 Arg Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 20 25 30

25

<210> 139  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

30

<400> 139

Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Gln Leu Met Gly Pro Ala Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Gln Asp Ser Ala Pro Val Asp Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 20 25 30

35

<210> 140  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

40

<400> 140

Gly Thr Met Gln Val Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu Arg  
 1 5 10 15  
 Gln Asp Ser Ala Pro Val Glu Pro Ser Ser Pro His Ser Tyr  
 20 25 30

45

<210> 141  
 <211> 8  
 <212> PRT

ES 2 537 062 T3

<213> *Homo sapiens*

<220>  
<221> MOD\_RES  
5 <222> (2)  
<223> Tyr(SO3H)

<400> 141

10 Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

<210> 142  
<211> 8  
<212> PRT  
15 <213> *Homo sapiens*

<400> 142

20 Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

<210> 143  
<211> 6  
<212> PRT  
25 <213> *Homo sapiens*

<400> 143

30 Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

<210> 144  
<211> 5  
<212> PRT  
35 <213> *Homo sapiens*

<400> 144

40 Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

<210> 145  
<211> 4  
<212> PRT  
45 <213> *Homo sapiens*

<400> 145

50 Trp Met Asp Phe  
1

<210> 146  
<211> 9  
<212> PRT  
55 <213> *Homo sapiens*

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)  
<223> Tyr(SO3H)

<400> 146

60 Lys Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

ES 2 537 062 T3

5 <210> 147  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 147

Lys Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

10 <210> 148  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

15 <400> 148

Lys Met Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

20 <210> 149  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25 <400> 149

Lys Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

30 <210> 150  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

35 <400> 150

Lys Trp Met Asp Phe  
1 5

40 <210> 151  
<211> 167  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 151

ES 2 537 062 T3

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asp Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

<210> 152  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 152

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Glu Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

10



ES 2 537 062 T3

<210> 153  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 153

```

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu
 1          5          10          15
Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys
          20          25          30
Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Ala
          35          40          45
Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro
          50          55          60
Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala
          65          70          75          80
Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln
          85          90          95
Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala
          100          105
Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu
          115          120          125
Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val
          130          135          140
Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln
          145          150          155          160
Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys
          165
    
```

10

<210> 154  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

<400> 154

ES 2 537 062 T3

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Glu Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

<210> 155  
 <211> 166  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 155

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly  
 50 55 60  
 Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val  
 65 70 75 80  
 Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile  
 85 90 95  
 Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe  
 100 105 110  
 Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp  
 115 120 125  
 Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val  
 130 135 140  
 Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

<210> 156  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10

15

ES 2 537 062 T3

<400> 156

Met His Trp Gly Thr 5 Leu Cys Gly Phe Leu 10 Trp Leu Trp Pro Tyr 15 Leu  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp 30 Thr Lys  
 20 25  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile 45 Ser His Thr  
 35 40  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp 100 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val 110 Leu Ala  
 105  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

5

<210> 157

<211> 167

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 157

Met His Trp Gly Thr 5 Leu Cys Gly Phe Leu 10 Trp Leu Trp Pro Tyr 15 Leu  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp 30 Thr Lys  
 20 25  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile 45 Ser His Thr  
 35 40  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp 100 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val 110 Leu Ala  
 105  
 Phe ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

15

<210> 158

ES 2 537 062 T3

<211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 158

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asp Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

10 <210> 159  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 159

ES 2 537 062 T3

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Glu Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

<210> 160  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 160

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ala Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

<210> 161  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15

ES 2 537 062 T3

<400> 161

Met His Trp Gly Thr<sub>5</sub> Leu Cys Gly Phe Leu<sub>10</sub> Trp Leu Trp Pro Tyr<sub>15</sub> Leu  
Phe Tyr Val Gln<sub>20</sub> Ala Val Pro Ile Gln<sub>25</sub> Lys Val Gln Asp Asp<sub>30</sub> Thr Lys  
Thr Leu Ile<sub>35</sub> Lys Thr Ile Val Thr<sub>40</sub> Arg Ile Asn Asp<sub>45</sub> Ile Ser His Thr  
Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln<sub>55</sub> Lys Val Thr Gly Leu<sub>60</sub> Asp Phe Ile Pro  
Gly Leu His Pro Ile Leu<sub>70</sub> Thr Leu Ser Lys Met<sub>75</sub> Asp Gln Thr Leu Ala<sub>80</sub>  
Val Tyr Gln Gln<sub>85</sub> Ile Leu Thr Ser Met<sub>90</sub> Pro Ser Arg Asn Val<sub>95</sub> Ile Gln  
Ile Ser Asn Asp<sub>100</sub> Leu Glu Asn Leu Arg<sub>105</sub> Asp Leu Leu His Val<sub>110</sub> Leu Ala  
Phe Ser Lys<sub>115</sub> Ser Ser His Leu Pro<sub>120</sub> Trp Ala Ser Gly Leu<sub>125</sub> Glu Thr Leu  
Asp Ser<sub>130</sub> Leu Gly Gly Val Leu<sub>135</sub> Glu Ala Ser Gly Tyr<sub>140</sub> Ser Thr Glu Val  
Val Ala Leu Ser Arg Leu<sub>150</sub> Gln Gly Ser Leu Gln<sub>155</sub> Asp Met Leu Trp Gln<sub>160</sub>  
Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys

165

5

<210> 162  
<211> 167  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 162

Met His Trp Gly Thr<sub>5</sub> Leu Cys Gly Phe Leu<sub>10</sub> Trp Leu Trp Pro Tyr<sub>15</sub> Leu  
Phe Tyr Val Gln<sub>20</sub> Ala Val Pro Ile Gln<sub>25</sub> Lys Val Gln Asp Asp<sub>30</sub> Thr Lys  
Thr Leu Ile<sub>35</sub> Lys Thr Ile Val Thr<sub>40</sub> Arg Ile Asn Asp<sub>45</sub> Ile Ser His Thr  
Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln<sub>55</sub> Lys Val Thr Gly Leu<sub>60</sub> Asp Phe Ile Pro  
Gly Leu His Pro Ile Leu<sub>70</sub> Thr Leu Ser Lys Met<sub>75</sub> Asp Gln Thr Leu Ala<sub>80</sub>  
Val Tyr Gln Gln<sub>85</sub> Ile Leu Thr Ser Met<sub>90</sub> Pro Ser Arg Asn Val<sub>95</sub> Ile Gln  
Ile Ser Asn Asp<sub>100</sub> Leu Glu Asn Leu Arg<sub>105</sub> Asp Leu Leu His Val<sub>110</sub> Leu Ala  
Phe Ser Lys<sub>115</sub> Ser Cys His Leu Pro<sub>120</sub> Trp Ala Ser Gly Leu<sub>125</sub> Glu Thr Leu  
Asp Ser<sub>130</sub> Leu Gly Gly Val Leu<sub>135</sub> Glu Ala Ser Leu Tyr<sub>140</sub> Ser Thr Glu Val  
Val Ala Leu Ser Arg Leu<sub>150</sub> Gln Gly Ser Leu Gln<sub>155</sub> Asp Met Leu Trp Gln<sub>160</sub>  
Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
165

ES 2 537 062 T3

5 <210> 163  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 163

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Ser  
 165

10

15 <210> 164  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 164

ES 2 537 062 T3

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asp Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Glu Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

5 <210> 165  
 <211> 167  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 165

10 Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asp Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

15 <210> 166  
 <211> 167  
 <212> PRT



ES 2 537 062 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 166

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Ser His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 165

5

<210> 167

<211> 167

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 167

Met His Trp Gly Thr Leu Cys Gly Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Tyr Val Gln Ala Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys  
 20 25 30  
 Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr  
 35 40 45  
 Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro  
 50 55 60  
 Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Val Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Glu Val Ile Gln  
 85 90 95  
 Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala  
 100 105 110  
 Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu  
 115 120 125  
 Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val  
 130 135 140  
 Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln  
 145 150 155 160  
 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Ser  
 165

15

ES 2 537 062 T3

<210> 168  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 168  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 10  
 <210> 169  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)  
 <223> D-Gln  
 20  
 <400> 169  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 25  
 <210> 170  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 170  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Lys Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 35  
 <210> 171  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 40  
 <400> 171  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Lys Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 45  
 <210> 172  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 172  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 50

ES 2 537 062 T3

<210> 173  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 5 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 173  
  
           His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
           1                                  5                                  10                                  15  
           Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
                                   20                                  25                                  30  
 10  
 <210> 174  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)  
 <223> D-Gln  
 20  
 <400> 174  
  
           His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
           1                                  5                                  10                                  15  
           Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
                                   20                                  25                                  30  
 25  
 <210> 175  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 30 <213> *Homo sapiens*  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)  
 <223> acetyl-Lys  
 35  
 <400> 175  
  
           His Ala Lys Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
           1                                  5                                  10                                  15  
           Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
                                   20                                  25                                  30  
 40  
 <210> 176  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 176  
  
           His Ala Thr Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
           1                                  5                                  10                                  15  
           Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
                                   20                                  25                                  30  
 50  
 <210> 177  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
  
 <220>

ES 2 537 062 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (3)  
 <223> D-Thr

5 <400> 177

His Ala Thr Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

<210> 178  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 178

His Ala Asn Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

<210> 179  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)  
 <223> D-Asn

<400> 179

His Ala Asn Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

<210> 180  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 180

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

<210> 181  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 181

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Lys Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

ES 2 537 062 T3

<210> 182  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 182  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Lys Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 10  
 <210> 183  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 183  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 20  
 <210> 184  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 184  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Arg Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30  
 30  
 <210> 185  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*  
 <400> 185  
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 35  
 <210> 186  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*  
 40  
 <400> 186  
 His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

5 <210> 187  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*  
 <400> 187

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Ala Ile Glu Phe Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

10 <210> 188  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Xenopus laevis*  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (37)  
 <223> Ser-OH  
 20 <400> 188

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Thr Gln Gln Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Lys Glu Phe Ile Asp Trp Leu Ile Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Lys Glu Ile Ile Ser  
 35

25 <210> 189  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30 <400> 189

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Pro Ser Thr Asn Val  
 20 25 30  
 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

35 <210> 190  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*  
 40 <400> 190

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn  
 20 25

45 <210> 191  
 <211> 36  
 <212> PRT

ES 2 537 062 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 191

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15  
 Val His Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

5

<210> 192

<211> 36

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 192

Tyr Pro Leu Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

15

<210> 193

<211> 36

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20

<400> 193

Tyr Pro Val Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

25

<210> 194

<211> 36

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

30

<400> 194

Tyr Pro Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

35

<210> 195

<211> 36

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

40

<400> 195

ES 2 537 062 T3

Tyr Pro Ile Gln Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

5 <210> 196  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 196

Tyr Pro Ile Asn Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

10 <210> 197  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 197

Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Lys His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

20 <210> 198  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 198

Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Pro Arg Tyr  
 35

30 <210> 199  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 199



ES 2 537 062 T3

Tyr<sub>1</sub> Pro Ile Lys Pro<sub>5</sub> Glu Ala Pro Gly Glu<sub>10</sub> Asp Ala Ser Pro Glu<sub>15</sub> Glu  
 Leu Asn Arg Tyr<sub>20</sub> Tyr Ala Ser Leu Arg<sub>25</sub> His Tyr Leu Asn Leu<sub>30</sub> Val Thr  
 Arg His Arg Tyr<sub>35</sub>

5 <210> 200  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 200

Tyr<sub>1</sub> Pro Ile Lys Pro<sub>5</sub> Glu Ala Pro Gly Glu<sub>10</sub> Asp Ala Pro Ala Glu<sub>15</sub> Glu  
 Leu Asn Arg Tyr<sub>20</sub> Tyr Ala Ser Leu Arg<sub>25</sub> His Tyr Leu Asn Leu<sub>30</sub> Val Thr  
 Arg Gln Arg Tyr<sub>35</sub>

10 <210> 201  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 201

Tyr<sub>1</sub> Pro Ile Lys Pro<sub>5</sub> Glu Ala Pro Gly Glu<sub>10</sub> Asp Ala Ser Pro Glu<sub>15</sub> Glu  
 Leu Asn Arg Tyr<sub>20</sub> Tyr Ala Ser Leu Arg<sub>25</sub> His Tyr Leu Asn Leu<sub>30</sub> Leu Thr  
 Arg Pro Arg Tyr<sub>35</sub>

20 <210> 202  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 202

Tyr<sub>1</sub> Pro Ile Pro<sub>5</sub> Glu Ala Pro Gly Glu<sub>10</sub> Asp Ala Ser Pro Glu<sub>15</sub> Glu Leu  
 Asn Arg Tyr Tyr<sub>20</sub> Ala Ser Leu Arg His<sub>25</sub> Tyr Leu Asn Leu Val<sub>30</sub> Thr Arg  
 Gln Arg Tyr<sub>35</sub>

30 <210> 203  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Descripción de la secuencia artificial: Construcción quimérica de ser humano y de salmón

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)  
 <223> Phe(CH2so3)

ES 2 537 062 T3

<400> 203

Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe Gly Lys Arg Lys Cys Asn Thr Ala  
 1 5 10 15  
 Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Glu Leu Val Arg Leu Gln Thr  
 20 25 30  
 Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35 40

5 <210> 204  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 204

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Thr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

15 <210> 205  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 205

Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Thr Leu Glu Gly Gln Ala  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25

25 <210> 206  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 206

Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Thr Leu Glu Gly Gln Ala  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg  
 20 25

30 <210> 207  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*

<400> 207

Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu  
 1 5 10 15  
 Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 20 25 30

35 <210> 208  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 208

ES 2 537 062 T3

Trp Met Asp Phe  
1

5 <210> 209  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 209

Gly Trp Met Asp Phe  
1 5

10 <210> 210  
<211> 36  
<212> PRT  
15 <213> *Homo sapiens*  
  
<400> 210

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
1 5 10 15  
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
20 25 30  
Gly Ser Asn Thr  
35

20 <210> 211  
<211> 35  
<212> PRT  
25 <213> *Homo sapiens*  
  
<400> 211

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
1 5 10 15  
Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val  
20 25 30  
Gly Ser Asn  
35

30 <210> 212  
<211> 20  
<212> PRT  
35 <213> *Homo sapiens*  
  
<400> 212

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
1 5 10 15  
Val His Ser Ser  
20

40 <210> 213  
<211> 18  
<212> PRT  
45 <213> *Homo sapiens*  
  
<400> 213

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
1 5 10 15  
Val His

ES 2 537 062 T3

5 <210> 214  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 214

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15

Val

10 <210> 215  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 215

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu  
 1 5 10 15

20 <210> 216  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 216

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe  
 1 5 10 15

30 <210> 217  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 217

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys  
 1 5

40 <210> 218  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 218

Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro  
 1 5 10 15

Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro  
 20 25

50 <210> 219  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 219

Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro  
 1 5 10 15

Gln Thr Ala Ile  
 20

ES 2 537 062 T3

<210> 220  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 220  
 Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro  
 1 5 10 15  
 Gln Thr Ala  
 10  
 <210> 221  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 221  
 Met Leu Gly  
 1  
 20  
 <210> 222  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 222  
 Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala  
 1 5  
 30  
 <210> 223  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 223  
 Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile  
 1 5 10  
 40  
 <210> 224  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 224  
 45  
 Gln Asn Leu Ser His Arg Leu Trp Gln Leu  
 1 5 10  
 50  
 <210> 225  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 225

ES 2 537 062 T3

Val<sub>1</sub> Pro Ile Gln Lys<sub>5</sub> Val Gln Asp Asp Thr<sub>10</sub> Lys Thr Leu Ile Lys Thr<sub>15</sub>  
 Ile Val Thr Arg<sub>20</sub> Ile Asn Asp Ile Ser<sub>25</sub> His Thr Gln Ser Val<sub>30</sub> Ser Ser  
 Lys Gln Lys<sub>35</sub> Val Thr Gly Leu Asp<sub>40</sub> Phe Ile Pro Gly Leu<sub>45</sub> His Pro Ile  
 Leu Thr<sub>50</sub> Leu Ser Lys Met Asp<sub>55</sub> Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile  
 Leu Thr<sub>65</sub> Ser Met Pro Ser<sub>70</sub> Arg Asn Val Ile Gln<sub>75</sub> Ile Ser Asn Asp Leu<sub>80</sub>  
 Glu Asn Leu Arg Asp<sub>85</sub> Leu Leu His Val<sub>90</sub> Leu Ala Phe Ser Lys Ser<sub>95</sub> Cys  
 His Leu Pro Trp<sub>100</sub> Ala Ser Gly Leu Glu<sub>105</sub> Thr Leu Asp Ser<sub>110</sub> Leu Gly Gly  
 Val Leu Glu<sub>115</sub> Ala Ser Gly Tyr Ser<sub>120</sub> Thr Glu Val Val Ala<sub>125</sub> Leu Ser Arg  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

5 <210> 226  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 226

Lys Val Thr Gly Leu<sub>5</sub> Asp Phe Ile Pro Gly<sub>10</sub> Leu His Pro Ile Leu Thr<sub>15</sub>  
 Leu Ser

10 <210> 227  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 227

Tyr Pro Ile Lys Pro<sub>5</sub> Glu Ala Pro Gly<sub>10</sub> Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu<sub>15</sub>  
 Leu Asn Arg Tyr<sub>20</sub> Tyr Ala Ser Leu Arg<sub>25</sub> His Tyr Leu Asn Leu<sub>30</sub> Val Thr  
 Arg Gln Arg<sub>35</sub>

20 <210> 228  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 228

Tyr Pro Ile Lys Pro<sub>5</sub> Glu Ala Pro Gly<sub>10</sub> Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu<sub>15</sub>  
 Leu Asn Arg Tyr<sub>20</sub> Tyr Ala Ser Leu Arg<sub>25</sub> His Tyr Leu Asn Leu<sub>30</sub>

ES 2 537 062 T3

<210> 229  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 229  
 Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg  
 20 25  
 10  
 <210> 230  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 230  
 Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu  
 1 5 10 15  
 20  
 <210> 231  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 231  
 Tyr Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu  
 1 5 10  
 30  
 <210> 232  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 232  
 Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu  
 1 5 10 15  
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg  
 20 25 30  
 Gln Arg Tyr  
 35  
 40  
 <210> 233  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 233  
 Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg  
 1 5 10 15  
 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
 20 25 30  
 45  
 Tyr  
 <210> 234

ES 2 537 062 T3

<211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 234

Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr  
 1 5 10 15  
 Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 20 25 30

<210> 235  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 235

15

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Thr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Leu Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly

20

25

<210> 236  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*

20

<400> 236

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys  
 20 25

25

<210> 237  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*

30

<400> 237

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn  
 20 25

35

<210> 238  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Heloderma suspectum*

40

<400> 238

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly  
 20 25

45

<210> 239  
 <211> 30  
 <212> PRT



ES 2 537 062 T3

<213> *Heloderma suspectum*

<400> 239

5 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly  
 20 25 30

<210> 240

<211> 28

<212> PRT

10 <213> *Heloderma suspectum*

<400> 240

15 His Gly Glu Gly Ala Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn  
 20 25

<210> 241

<211> 27

<212> PRT

20 <213> *Heloderma suspectum*

<400> 241

25 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys  
 20 25

<210> 242

<211> 6

<212> PRT

30 <213> *Homo sapiens*

<400> 242

Val Gly Ser Asn Thr Tyr  
 1 5

<210> 243

35 <211> 5

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 243

40 Gly Ser Asn Thr Tyr  
 1 5

<210> 244

45 <211> 4

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 244

50 Ser Asn Thr Tyr  
 1

<210> 245

<211> 6

ES 2 537 062 T3

<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5 <400> 245  
Ile Ser Pro Gln Gly Tyr  
1 5

<210> 246  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 246  
Ser Pro Gln Gly Tyr  
1 5

<210> 247  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

15 <400> 247  
Pro Gln Gly Tyr  
1

<210> 248  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 248  
Ile Gly Val Gly Ala Pro  
1 5

<210> 249  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25 <400> 249  
Gly Val Gly Ala Pro  
1 5

<210> 250  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 250  
Val Gly Ala Pro  
1

<210> 251  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

35 <400> 251  
Val Gly Ser Lys Ala Phe  
1 5

40

45

50

55

60

ES 2 537 062 T3

5 <210> 252  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 252

Gly Ser Lys Ala Phe  
1 5

10 <210> 253  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

15 <400> 253

Ser Lys Ala Phe  
1

20 <210> 254  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25 <400> 254

Ser Ser Pro His Ser Tyr  
1 5

30 <210> 255  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

35 <400> 255

Ser Pro His Ser Tyr  
1 5

40 <210> 256  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 256

Pro His Ser Tyr  
1

45 <210> 257  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

50 <400> 257

Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
1 5 10

55 <210> 258  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

60 <400> 258

ES 2 537 062 T3

His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5 10

5 <210> 259  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 259

Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5 10

15 <210> 260  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 260

20 Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5

25 <210> 261  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 261

30 Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5

35 <210> 262  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 262

40 Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5

45 <210> 263  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 263

50 Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5

55 <210> 264  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 264

60 Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5

<210> 265  
 <211> 11  
 <212> PRT

ES 2 537 062 T3

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 265  
 5 Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
           1                          5                          10  
 <210> 266  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 10 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 266  
 15 His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
           1                          5                          10  
 <210> 267  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 20 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 267  
 25 Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
           1                          5                          10  
 <210> 268  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 30 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 268  
 35 Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
           1                          5                          10  
 <210> 269  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 40 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 269  
 45 Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
           1                          5                          10  
 <210> 270  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 50 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 270  
 55 Leu Val Thr Arg Gln Arg  
           1                          5                          10  
 <210> 271  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 271  
 Val Thr Arg Gln Arg  
       1                          5

ES 2 537 062 T3

5 <210> 272  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 272

Thr Arg Gln Arg  
1

10 <210> 273  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Xenopus sp.*

15 <400> 273

Gly Lys Pro Lys Lys Ile Arg Tyr Ser  
1 5

20 <210> 274  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Xenopus sp.*

25 <400> 274

Lys Pro Lys Lys Ile Arg Tyr Ser

1

5

30 <210> 275  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Xenopus sp.*

<400> 275

Gly Trp Leu Ile Lys Gly Arg Pro  
1 5

40 <210> 276  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> *Xenopus sp.*

<400> 276

Trp Leu Ile Lys Gly Arg Pro  
1 5

45 <210> 277  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

50 <400> 277

Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
1 5

55 <210> 278  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

ES 2 537 062 T3

<400> 278

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
1 5

5 <210> 279  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

10 <400> 279

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
1 5

15 <210> 280  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

20 <400> 280

Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
1 5

25 <210> 281  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

<400> 281

30 Ala Pro Pro Pro Ser  
1 5

35 <210> 282  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

<400> 282

Pro Pro Pro Ser  
1

40 <210> 283  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> *Xenopus sp.*

45 <400> 283

Thr Asn Asp Val Thr Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Ala Ala Lys Glu Phe  
1 5 10 15  
Ile Glu Trp Leu Ile Lys Gly Lys Pro Lys Lys Ile Arg Tyr  
20 25 30

50 <210> 284  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> *Heloderma suspectum*

55 <400> 284

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Leu Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Phe Leu Lys Asn  
 20 25

5 <210> 285  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 285

10 Lys Ala Asn Thr Ala Thr Ala  
 1 5

15 <210> 286  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*  
 <400> 286

Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro  
 1 5 10 15

Arg Thr Asn Thr  
 20

20 <210> 287  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25 <400> 287

Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe  
 1 5

30 <210> 288  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus sp.*  
 35 <400> 288

Val Leu Gly Lys Leu Ser Glu Glu Leu His Lys Leu Gln Thr Tyr Pro  
 1 5 10 15

Arg Thr Asn Thr  
 20

40 <210> 289  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> artificial  
 45 <220>  
 <223> Construcción quimérica de ser humano y de salmón  
 <400> 289

Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro  
 1 5 10 15

Arg Thr Asn Thr  
 20

50



ES 2 537 062 T3

<210> 290  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 290  
 Ala Pro Leu Glu Pro Val Tyr Pro Gly Asp Asn Ala Thr Pro Glu Gln  
 1 5 10 15  
 Met Ala Gln Tyr Ala Ala Asp Leu Arg Arg Tyr Ile Asn Met Leu Thr  
 20 25 30  
 Arg Pro Arg Tyr  
 35  
 10 <210> 291  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> C-term amidado  
 <400> 291  
 20 Val Ile Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Arg Ile Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Glu Gln Ala Arg Tyr Lys Ala Ala Arg Asn Gln Ala Ala Thr Asn Ala  
 20 25 30  
 Gln Ile Leu Ala His Val  
 35  
 25 <210> 292  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 292  
 Trp Ser Pro Gly Ala Arg Asn Gln Gly Gly Gly Ala Arg Ala Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Leu Ala Glu Arg Phe Pro  
 20  
 30 <210> 293  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado  
 40 <400> 293  
 Thr Gln Ser Gln Arg Glu Arg Ala Glu Gln Asn Arg Ile Ile Phe Asp  
 1 5 10 15  
 Ser Val

ES 2 537 062 T3

<210> 294  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> C-term amidado  
 10  
 <400> 294  
 Asp Asn Pro Ser Leu Ser Ile Asp Leu Thr Phe His Leu Leu Arg Thr  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Glu Leu Ala Arg Thr Gln Ser Gln Arg Glu Arg Ala Glu Gln  
 20 25 30  
 Asn Arg Ile Ile Phe Asp Ser Val  
 35 40  
 <210> 295  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <400> 295  
 Ser Phe His Tyr Leu Arg Ser Arg Asp Ala Ser Ser Gly Glu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Gly Lys Glu  
 20  
 <210> 296  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 296  
 Ala Gln Ala Ala Ala Asn Ala His Leu Met Ala Gln Ile  
 1 5 10  
 <210> 297  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 297  
 Asp Asn Pro Ser Leu Ser Ile Asp Leu Thr Phe His Leu Leu Arg Thr  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Glu Leu Ala  
 20  
 <210> 298  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 45

ES 2 537 062 T3

<400> 298

Thr Lys Phe Thr Leu Ser Leu Asp Val Pro Thr Asn Ile Met Asn Leu  
1 5 10 15

Leu Phe Asn Ile Ala Lys Ala Lys Asn Leu  
20 25

5 <210> 299  
<211> 38  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> C-term amidado

<400> 299

15 Phe Thr Leu Ser Leu Asp Val Pro Thr Asn Ile Met Asn Leu Leu Phe  
1 5 10 15

Asn Ile Ala Lys Ala Lys Asn Leu Arg Ala Gln Ala Ala Ala Asn Ala  
20 25 30

His Leu Met Ala Gln Ile  
35

20 <210> 300  
<211> 38  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> C-term amidado

<400> 300

Phe Leu Phe His Tyr Ser Lys Thr Gln Lys Leu Gly Lys Ser Asn Val  
1 5 10 15

Val Glu Glu Leu Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr Phe  
20 25 30

Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
35

30 <210> 301  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

35 <400> 301

Ser Leu Arg Arg Ser Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly  
1 5 10 15

Ala Gln Ser Gly Leu Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr  
20 25

40 <210> 302  
<211> 32  
<212> PRT

ES 2 537 062 T3

<213> rata  
 <400> 302

Asn Ser Lys Met Ala His Ser Ser Ser Cys Phe Gly Gln Lys Ile Asp  
 1 5 10 15

5 Arg Ile Gly Ala Val Ser Arg Leu Gly Cys Asp Gly Leu Arg Leu Phe  
 20 25 30

<210> 303  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 303

Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp  
 1 5 10 15

15 Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His  
 20 25 30

<210> 304  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> porcino

20 <400> 304

Gly Leu Ser Lys Gly Cys Phe Gly Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser  
 1 5 10 15

Met Ser Gly Leu Gly Cys  
 20

25 <210> 305  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> porcino

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

35 <400> 305

Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 1 5

40 <210> 306  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> rata

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 306

ES 2 537 062 T3

Tyr Lys Val Asn Glu Tyr Gln Gly Pro Val Ala Pro Ser Gly Gly Phe  
 1 5 10 15

Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 20

5 <210> 307  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 307

Gly Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 1 5

15 <210> 308  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

25 <400> 308

Phe Arg Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg  
 1 5 10 15

Gly Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 20 25

30 <210> 309  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> Híbrido de CCK humana y PYY humano

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ligado del extremo N (cabeza) al extremo N (cabeza)

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> C-term amidado

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Tirosina sulfatada

55 <220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (9)..(9)  
 <223> Succinoil-Cys

<400> 309

5

Phe Asp Met Trp Gly Met Tyr Asp Cys Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

<210> 310  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Híbrido de CCK humana y PYY humano

15

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ligado del extremo N (cabeza) al extremo N (cabeza)

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> C-term amidado

30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Tirosina sulfatada

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Bis-Cys(N-Acetilo)

40

<400> 310

Phe Asp Met Trp Gly Met Tyr Asp Cys Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35

<210> 311  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45

<220>  
 <223> Híbrido de CCK humana y PYY humano

50

<220>

ES 2 537 062 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ligado del extremo N (cabeza) al extremo N (cabeza)

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> C-term amidado

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (7)..(7)  
 <223> para(CH2SO3)Phe

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Gly-Aminoximetilcarbonilo

<400> 311

Phe Asp Met Trp Gly Met Phe Asp Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15

Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr  
 20 25 30

25 Arg Gln Arg Tyr  
 35

<210> 312  
 <211> 63  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

35 <400> 312

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

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

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His  
 35 40 45

Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

40 <210> 313  
 <211> 62  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

45 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<400> 313

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

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

Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg  
35 40 45

Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

5 <210> 314  
<211> 25  
<212> PRT  
<213> porcina

10 <400> 314

Phe Lys Val Asp Glu Glu Phe Gln Gly Pro Ile Val Ser Gln Asn Arg  
1 5 10 15

Arg Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
20 25

15 <210> 315  
<211> 33  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 315

Ile Leu Gln Arg Gly Ser Gly Thr Ala Ala Val Asp Phe Thr Lys Lys  
1 5 10 15

Asp His Thr Ala Thr Trp Gly Arg Pro Phe Phe Leu Phe Arg Pro Arg  
20 25 30

20 Asn

<210> 316  
<211> 36  
<212> PRT  
25 <213> *Homo sapiens*

<400> 316

Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Arg Asn Gly Pro Gly Pro Trp Gln Gly  
1 5 10 15

Gly Arg Arg Lys Phe Arg Arg Gln Arg Pro Arg Leu Ser His Lys Gly  
20 25 30  
Pro Met Pro Phe  
35

30 <210> 317  
<211> 14  
<212> PRT  
35 <213> *Homo sapiens*

<400> 317



ES 2 537 062 T3

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

5 <210> 318  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 318

Ser Arg Thr His Arg His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn  
 1 5 10 15

15 Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe  
 20 25 30

20 <210> 319  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 319

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro  
 1 5 10 15

Val Gly Arg Phe  
 20

30 <210> 320  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 320

Gln Leu Gly Pro Gln Gly Pro Pro His Leu Val Ala Asp Pro Ser Lys  
 1 5 10 15

Lys Gln Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met  
 20 25 30

40 Asp Phe

45 <210> 321  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

50

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> piroGlutamina  
 5  
 <400> 321  
 Pro Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met  
 1 5 10 15  
 Asp Phe  
 10  
 <210> 322  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> bAla  
 <400> 322  
 25  
 Ala Trp Met Asp Phe  
 1 5  
 <210> 323  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado  
 35  
 <400> 323  
 Lys Ala Pro Ser Gly Arg Met Ser Ile Val Lys Asn Leu Gln Asn Leu  
 1 5 10 15  
 Asp Pro Ser His Arg Ile Ser Asp Arg Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp  
 20 25 30  
 Phe  
 40  
 <210> 324  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 324  
 Gln Glu Gly Ala Pro Pro Gln Gln Ser Ala Arg Arg Asp Arg Met Pro  
 1 5 10 15  
 Cys Arg Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Ser Ser Cys Lys  
 20 25  
 50  
 <210> 325

ES 2 537 062 T3

<211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5 <400> 325  
           Asp Arg Met Pro Cys Arg Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Ser Ser Cys  
           1                  5                  10                  15  
           Lys  
 10 <210> 326  
       <211> 28  
       <212> PRT  
       <213> *Homo sapiens*  
 15 <400> 326  
           Ser Ala Asn Ser Asn Pro Ala Met Ala Pro Arg Glu Arg Lys Ala Gly  
           1                  5                  10                  15  
           Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys  
                           20                          25  
 20 <210> 327  
       <211> 14  
       <212> PRT  
       <213> *Homo sapiens*  
       <400> 327  
           Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys  
                           1                  5                  10  
 25 <210> 328  
       <211> 27  
       <212> PRT  
       <213> *Homo sapiens*  
 30 <220>  
       <221> MISC\_FEATURE  
       <223> C-term amidado  
 35 <400> 328  
           Val Pro Leu Pro Ala Gly Gly Gly Thr Val Leu Thr Lys Met Tyr Pro  
           1                  5                  10                  15  
           Arg Gly Asn His Trp Ala Val Gly His Leu Met  
                           20                          25  
 40 <210> 329  
       <211> 10  
       <212> PRT  
       <213> *Homo sapiens*  
 45 <220>  
       <221> MISC\_FEATURE  
       <223> C-term amidado  
 50 <400> 329

ES 2 537 062 T3

Gly Asn His Trp Ala Val Gly His Leu Met  
 1 5 10

5 <210> 330  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 330

Leu Ser Trp Asp Leu Pro Glu Pro Arg Ser Arg Ala Ser Lys Ile Arg  
 1 5 10 15

15 Val His Ser Arg Gly Asn Leu Trp Ala Thr Gly His Phe Met  
 20 25 30

20 <210> 331  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 331

Gly Asn Leu Trp Ala Thr Gly His Phe Met  
 1 5 10

30 <210> 332  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 332

40 Pro Phe Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 1 5

45 <210> 333  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 333

Lys Ile Pro Tyr Ile Leu Lys Arg Gln Leu Tyr Glu Asn Lys Pro Arg  
 1 5 10 15

50 Arg Pro Tyr Ile Leu  
 20

55 <210> 334  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 537 062 T3

<400> 334

Gln Leu Tyr Glu Asn Lys Pro Arg Arg Pro Tyr Ile Leu  
 1 5 10

5 <210> 335  
 <211> 54  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

15 <400> 335

Gly Thr Ser Leu Ser Pro Pro Pro Glu Ser Ser Gly Ser Pro Gln Gln  
 1 5 10 15

Pro Gly Leu Ser Ala Pro His Ser Arg Gln Ile Pro Ala Pro Gln Gly  
 20 25 30

Ala Val Leu Val Gln Arg Glu Lys Asp Leu Pro Asn Tyr Asn Trp Asn  
 35 40 45

Ser Phe Gly Leu Arg Phe  
 50

20 <210> 336  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 336

Glu Lys Asp Leu Pro Asn Tyr Asn Trp Asn Ser Phe Gly Leu Arg Phe  
 1 5 10 15

30 <210> 337  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

40 <400> 337

Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser Gly Arg Asn Met  
 1 5 10 15

Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro Gln Arg Phe  
 20 25 30

45 <210> 338  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

5 <400> 338

Val Pro Asn Leu Pro Gln Arg Phe  
 1 5

10 <210> 339  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 339

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Ile Arg Pro Lys Leu Lys Trp Asp Asn  
 1 5 10 15

Gln Lys Arg Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr  
 20 25 30

20 <210> 340  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 340

Tyr Gly Gly Phe Leu Arg Arg Gln Phe Lys Val Val Thr  
 1 5 10

30 <210> 341  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> amida C-term

40 <400> 341

Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
 1 5 10

45 <210> 342  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 342

Cys Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys Glu Cys Val Tyr Phe Cys His  
 1 5 10 15

Leu Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro Glu His Val Val Pro Tyr Gly  
 20 25 30

Leu Gly Ser Pro Arg Ser  
 35

50 <210> 343  
 <211> 21  
 <212> PRT

ES 2 537 062 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 343

Cys Ser Cys Ser Ser Leu Met Asp Lys Glu Cys Val Tyr Phe Cys His  
 1 5 10 15  
 Leu Asp Ile Ile Trp  
 20

5

<210> 344

<211> 37

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<400> 344

Cys Ser Cys Ser Ser Trp Leu Asp Lys Glu Cys Val Tyr Phe Cys His  
 1 5 10 15  
 Leu Asp Ile Ile Trp Val Asn Thr Pro Glu Gln Thr Ala Pro Tyr Gly  
 20 25 30  
 Leu Gly Asn Pro Pro  
 35

15

<210> 345

<211> 21

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

20

<400> 345

Cys Ser Cys Ser Ser Trp Leu Asp Lys Glu Cys Val Tyr Phe Cys His  
 1 5 10 15  
 Leu Asp Ile Ile Trp  
 20

25

<210> 346

<211> 41

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

30

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<223> C-term amidado

<400> 346

35

Cys Thr Cys Phe Thr Tyr Lys Asp Lys Glu Cys Val Tyr Tyr Cys His  
 1 5 10 15  
 Leu Asp Ile Ile Trp Ile Asn Thr Pro Glu Gln Thr Val Pro Tyr Gly  
 20 25 30  
 Leu Ser Asn Tyr Arg Gly Ser Phe Arg  
 35 40

40

<210> 347

<211> 21

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

ES 2 537 062 T3

<400> 347

Cys Thr Cys Phe Thr Tyr Lys Asp Lys Glu Cys Val Tyr Tyr Cys His  
 1 5 10 15  
 Leu Asp Ile Ile Trp  
 20

5 <210> 348  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 348

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  
 20 25

15 <210> 349  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 349

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln  
 1 5 10

25 <210> 350  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 350

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn  
 20 25 30

30 Arg Asn Asn Ile Ala  
 35

35 <210> 351  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 351

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

40 <210> 352  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*



ES 2 537 062 T3

<400> 352

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys  
20 25 30

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln  
35 40

5

<210> 353  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> C-term amidado

15

<400> 353

Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys  
1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys  
20 25 30

20

<210> 354  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25

<400> 354

Trp Tyr Lys His Val Ala Ser Pro Arg Tyr His Thr Val Gly Arg Ala  
1 5 10 15

Ala Gly Leu Leu Met Gly Leu Arg Arg Ser Pro Tyr Leu Trp  
20 25 30

30

<210> 355  
<211> 23  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 355

Trp Tyr Lys His Val Ala Ser Pro Arg Tyr His Thr Val Gly Arg Ala  
1 5 10 15

35

Ala Gly Leu Leu Met Gly Leu  
20

40

<210> 356  
<211> 38  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

45

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> C-term amidado

<400> 356

ES 2 537 062 T3

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln  
 1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu Gly Lys Arg Tyr Lys  
 20 25 30

Gln Arg Val Lys Asn Lys  
 35

5 <210> 357  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 357

His Ser Asp Gly Ile Phe Thr Asp Ser Tyr Ser Arg Tyr Arg Lys Gln  
 1 5 10 15

Met Ala Val Lys Lys Tyr Leu Ala Ala Val Leu  
 20 25

15 <210> 358  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 358

His Ala Asp Gly Val Phe Thr Ser Asp Phe Ser Lys Leu Leu Gly Gln  
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Lys Tyr Leu Glu Ser Leu Met Gly Lys Arg Val Ser  
 20 25 30

20 <210> 359  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

30 <400> 359

His Ala Asp Gly Val Phe Thr Ser Asp Phe Ser Lys Leu Leu Gly Gln  
 1 5 10 15

Leu Ser Ala Lys Lys Tyr Leu Glu Ser Leu Met  
 20 25

35 <210> 360  
 <211> 44  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

5 <400> 360

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asn Ser Tyr Arg Lys Val Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Met Ser Arg Gln Gln Gly  
 20 25 30  
 Glu Ser Asn Gln Glu Arg Gly Ala Arg Ala Arg Leu  
 35 40

10 <210> 361  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 361

Tyr Ala Asp Ala Ile Phe Thr Asn Ser Tyr Arg Lys Val Leu Gly Gln  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Ala Arg Lys Leu Leu Gln Asp Ile Met Ser  
 20 25

20 <210> 362  
 <211> 84  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 362

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
 20 25 30  
 Asn Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly Ser  
 35 40 45  
 Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu  
 50 55 60  
 Lys Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asn Val Leu Thr Lys  
 65 70 75 80  
 Ala Lys Ser Gln

30 <210> 363  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 363

ES 2 537 062 T3

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Asn  
 1 5 10 15

Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
 20 25 30

Asn Phe Val Ala Leu  
 35

5 <210> 364  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 364

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Asn  
 1 5 10 15

Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
 20 25 30

10 Asn Phe

15 <210> 365  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 365

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Phe Phe Leu His His Leu Ile Ala Glu Ile His  
 20 25 30

Thr Ala Glu Ile Arg Ala Thr Ser Glu Val Ser Pro Asn Ser Lys Pro  
 35 40 45

Ser Pro Asn Thr Lys Asn His Pro Val Arg Gly Ser Asp Asp Glu Gly  
 50 55 60

Arg Tyr Leu Thr Gln Glu Thr Asn Lys Val Glu Thr Tyr Lys Glu Gln  
 65 70 75 80

Pro Leu Lys Thr Pro Gly Lys Lys Lys Lys Gly Lys Pro  
 85 90

25 <210> 366  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 366

ES 2 537 062 T3

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln  
 1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Phe Phe Leu His His Leu Ile Ala Glu Ile His  
 20 25 30

Thr Ala Glu Ile  
 35

5 <210> 367  
 <211> 26  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 367

Tyr Val Met Gly His Phe Arg Trp Asp Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser  
 1 5 10 15

10 Ser Ser Ser Gly Ser Ser Gly Ala Gly Gln  
 20 25

15 <210> 368  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 368

Tyr Val Met Gly His Phe Arg Trp Asp Arg Phe  
 1 5 10

25 <210> 369  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 369

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val Gly Lys Lys  
 1 5 10 15

Arg Arg Pro Val Lys Val Tyr Pro Asn Gly Ala Glu Asp Glu Ser Ala  
 20 25 30

Glu Ala Phe Pro Leu Glu Phe  
 35

35 <210> 370  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

<400> 370

45 Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val  
 1 5 10

ES 2 537 062 T3

<210> 371  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 5 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 371  
  
 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr  
 1 5 10 15  
  
 Leu Phe Lys Asn Ala Ile Ile Lys Asn Ala Tyr Lys Lys Gly Glu  
 20 25 30  
 10  
  
 <210> 372  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 372  
  
 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr  
 1 5 10 15  
  
 Leu Phe Lys Asn Ala Ile Ile Lys Asn Ala Tyr  
 20 25  
 20  
  
 <210> 373  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25 <400> 373  
  
 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr  
 1 5 10 15  
  
 Leu  
  
 <210> 374  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30 <400> 374  
  
 Tyr Gly Gly Phe Met Thr Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr  
 1 5 10 15  
 35  
  
 <210> 375  
 <211> 151  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 40 <400> 375

ES 2 537 062 T3

Met Ser Ser Phe Ser Thr Thr Thr Val Ser Phe Leu Leu Leu Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Phe Gln Leu Leu Gly Gln Thr Arg Ala Asn Pro Met Tyr Asn Ala Val  
 20 25 30  
 Ser Asn Ala Asp Leu Met Asp Phe Lys Asn Leu Leu Asp His Leu Glu  
 35 40 45  
 Glu Lys Met Pro Leu Glu Asp Glu Val Val Pro Pro Gln Val Leu Ser  
 50 55 60  
 Asp Pro Asn Glu Glu Ala Gly Ala Ala Leu Ser Pro Leu Pro Glu Val  
 65 70 75 80  
 Pro Pro Trp Thr Gly Glu Val Ser Pro Ala Gln Arg Asp Gly Gly Ala  
 85 90 95  
 Leu Gly Arg Gly Pro Trp Asp Ser Ser Asp Arg Ser Ala Leu Leu Lys  
 100 105 110  
 Ser Lys Leu Arg Ala Leu Leu Thr Ala Pro Arg Ser Leu Arg Arg Ser  
 115 120 125  
 Ser Cys Phe Gly Gly Arg Met Asp Arg Ile Gly Ala Gln Ser Gly Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Asn Ser Phe Arg Tyr  
 145 150

- <210> 376
- <211> 134
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 376

ES 2 537 062 T3

Met Asp Pro Gln Thr Ala Pro Ser Arg Ala Leu Leu Leu Leu Leu Phe  
 1 5 10 15  
 Leu His Leu Ala Phe Leu Gly Gly Arg Ser His Pro Leu Gly Ser Pro  
 20 25 30  
 Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly Leu Gln Glu Gln Arg Asn  
 35 40 45  
 His Leu Gln Gly Lys Leu Ser Glu Leu Gln Val Glu Gln Thr Ser Leu  
 50 55 60  
 Glu Pro Leu Gln Glu Ser Pro Arg Pro Thr Gly Val Trp Lys Ser Arg  
 65 70 75 80  
 Glu Val Ala Thr Glu Gly Ile Arg Gly His Arg Lys Met Val Leu Tyr  
 85 90 95  
 Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ser Pro Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys  
 100 105 110  
 Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys  
 115 120 125  
 Lys Val Leu Arg Arg His  
 130

5

<210> 377  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 377

Met His Leu Ser Gln Leu Leu Ala Cys Ala Leu Leu Leu Thr Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Pro Ser Glu Ala Lys Pro Gly Ala Pro Pro Lys Val Pro  
 20 25 30  
 Arg Thr Pro Pro Ala Glu Glu Leu Ala Glu Pro Gln Ala Ala Gly Gly  
 35 40 45  
 Gly Gln Lys Lys Gly Asp Lys Ala Pro Gly Gly Gly Gly Ala Asn Leu  
 50 55 60  
 Lys Gly Asp Arg Ser Arg Leu Leu Arg Asp Leu Arg Val Asp Thr Lys  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Ala Ala Trp Ala Arg Leu Leu Gln Glu His Pro Asn Ala Arg  
 85 90 95  
 Lys Tyr Lys Gly Ala Asn Lys Lys Gly Leu Ser Lys Gly Cys Phe Gly  
 100 105 110  
 Leu Lys Leu Asp Arg Ile Gly Ser Met Ser Gly Leu Gly Cys  
 115 120 125

10

15

<210> 378  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Lagarto*



ES 2 537 062 T3

<400> 378

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp  
1 5

5 <210> 379  
<211> 59  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<400> 379

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Lys Cys Asn Thr Ala  
20 25 30

Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu Gln Thr  
35 40 45

15 Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55

20 <210> 380  
<211> 61  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(29)  
<223> 12-Ado

30 <400> 380

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
20 25 30

Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu  
35 40 45

Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

35 <210> 381  
<211> 60  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>  
<221> MOD\_RES

ES 2 537 062 T3

<222> (29)..(29).  
 <223> 12-Ado

<400> 381

5

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
 20 25 30  
 Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu Gln  
 35 40 45  
 Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

<210> 382  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

15

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> 3,6-dioxaoctanoilo

20

<400> 382

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
 20 25 30  
 Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu  
 35 40 45  
 Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

25

<210> 383  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30

<220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> 3,6-dioxaoctanoilo

<400> 383

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
 20 25 30

Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu Gln  
 35 40 45

Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

5 <210> 384  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> 5-Apa

15 <400> 384

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
 20 25 30

Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu  
 35 40 45

Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

20 <210> 385  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> 5-Apa

30 <400> 385

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
20 25 30

Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu Gln  
35 40 45

Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

5 <210> 386  
<211> 62  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(30)  
<223> bAla

15 <400> 386

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Lys Cys  
20 25 30

Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg  
35 40 45

Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

20 <210> 387  
<211> 61  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(30)  
<223> bAla

30 <400> 387

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Cys Asn  
20 25 30

Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu  
35 40 45

Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

5 <210> 388  
<211> 61  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

15 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(29)  
<223> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidílo

<400> 388

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Lys Cys Asn  
20 25 30

Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu  
35 40 45

Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

20 <210> 389  
<211> 60  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Construcción híbrida de lagarto, de ser humano y de salmón

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(29)  
<223> 4,7,10-trioxa-13-tridecanamina succinimidílo

<400> 389

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Cys Asn Thr  
 20 25 30

Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Glu Glu Leu His Arg Leu Gln  
 35 40 45

Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

5 <210> 390  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Construcción híbrida de ser humano y de salmón

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Tyr(SO3)

<400> 390

Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe Gly Lys Arg Lys Cys Asn Thr Ala  
 1 5 10 15

Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Glu Leu Val Arg Leu Gln Thr  
 20 25 30

Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35 40

20 <210> 391  
 <211> 68  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto y de ser humano

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> bAla

<400> 391

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Phe Leu  
 20 25 30

Phe His Tyr Ser Lys Thr Gln Lys Leu Gly Lys Ser Asn Val Val Glu  
 35 40 45

Glu Leu Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr Phe Leu Phe  
 50 55 60

Arg Pro Arg Asn  
 65

5 <210> 392  
 <211> 55  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto y de ser humano

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> bAla

20 <400> 392

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Phe Arg  
 20 25 30

Val Asp Glu Glu Phe Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr  
 35 40 45

Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 50 55

25 <210> 393  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto y de ser humano

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(30)  
 <223> bAla

40

ES 2 537 062 T3

<400> 393

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Gly Tyr  
 20 25 30  
 Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 35

5 <210> 394  
 <211> 62  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto y de ser humano

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 15 <222> (29)..(30)  
 <223> bAla

<400> 394

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Ser Pro  
 20 25 30  
 Lys Met Val Gln Gly Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile  
 35 40 45  
 Ser Ser Ser Ser Gly Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His  
 50 55 60

20 <210> 395  
 <211> 73  
 <212> PRT  
 25 <213> Artificial

<220>  
 <223> Construcción híbrida de lagarto y de ser humano

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(41)  
 <223> bAla

35 <400> 395



ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Xaa Xaa Ser Pro Lys Met Val Gln Gly  
 35 40 45  
 Ser Gly Cys Phe Gly Arg Lys Met Asp Arg Ile Ser Ser Ser Ser Gly  
 50 55 60  
 Leu Gly Cys Lys Val Leu Arg Arg His  
 65 70

5 <210> 396  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 10 <220>  
 <223> Construcción híbrida de salmón y de ser humano

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> C-term amidado

15 <400> 396

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu  
 1 5 10 15  
 His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 20 25 30

20 <210> 397  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 25 <220>  
 <223> Construcción híbrida de ser humano y de salmón

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (4)..(4)  
 <223> d-Leucina

30 <400> 397

Ser Ser Ser Leu Pro Gln Thr Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu  
 1 5 10 15  
 Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr  
 20 25 30  
 Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35

35 <210> 398  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40

ES 2 537 062 T3

<220>  
<223> Construcción híbrida de ser humano y de salmón

5 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> para(CH2so3)Phe

10 <400> 398

Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe Gly Lys Arg Lys Cys Asn Thr Ala  
1 5 10 15  
Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Glu Leu Val Arg Leu Gln Thr  
20 25 30  
Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr  
35 40

15 <210> 399  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 399

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu  
1 5 10 15  
Glu Gln Ala Arg Ala Arg Ala Ala Arg Glu Gln Ala Thr Thr Asn Ala  
20 25 30  
Arg Ile Leu Ala Arg Val Gly His Cys  
35 40

25 <210> 400  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 400

Met Val Pro Ile Gln Lys  
1 5

35 <210> 401  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 401

Val Gln Asp Asp Thr Lys  
1 5

40 <210> 402  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 402

Thr Leu Ile Lys  
1

ES 2 537 062 T3

<210> 403  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 403  
  
 Thr Ile Val Thr Arg  
 1 5  
 10  
 <210> 404  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 404  
  
 Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys  
 1 5 10  
 20  
 <210> 405  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 405  
  
 Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu  
 1 5 10 15  
  
 Ser Lys  
 30  
 <210> 406  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 406  
  
 Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu Glu Asn Leu Arg  
 1 5 10  
 35  
 <210> 407  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 407  
  
 Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys  
 1 5 10  
 45  
 <210> 408  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 408

ES 2 537 062 T3

Ser Cys His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu  
 1 5 10 15

Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
 20 25 30

Ser Arg

5 <210> 409  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 409

Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 1 5 10 15

10 Gly Cys

15 <210> 410  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> género

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> xaa puede ser una secuencia de leptina contigua de ratón o de ser humano

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..()  
 <223> xaa puede ser cualquier aminoácido

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..()  
 <223> xaa puede ser cualquier aminoácido

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (8)..()  
 <223> xaa es cualquier aminoácido

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..()  
 <223> xaa puede ser una secuencia de leptina contigua de ratón o de ser humano

45 <400> 410

Xaa Ser Cys Xaa Leu Pro Xaa Xaa Xaa  
 1 5

50 <210> 411  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

55 <400> 411

ES 2 537 062 T3

Ser Cys Ser Leu Pro Gln Thr  
 1 5

5 <210> 412  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 412

10 Ser Cys His Leu Pro Trp Ala  
 1 5

15 <210> 413  
 <211> 52  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> sintética

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..()  
 <223> Xaa es Trp o Gln

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (36)..()  
 <223> xaa es Gln o Glu

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (40)..()  
 <223> xaa es Gln o Glu

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (42)..()  
 <223> xaa es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (44)..()  
 <223> xaa es Trp o Gln

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (45)..()  
 <223> xaa es Gln o Glu

50 <400> 413

Ser Cys His Leu Pro Xaa Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu  
 1 5 10 15

Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu  
 20 25 30

Ser Arg Leu Xaa Gly Ser Leu Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Leu Asp Leu  
 35 40 45

Ser Pro Gly Cys  
 50

ES 2 537 062 T3

<210> 414  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (28)..()  
 <223> xaa es Gln o falta

10

<400> 414

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr xaa Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile  
 35 40 45  
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 His Leu Pro Gln Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

15

<210> 415  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> porcino

20

<400> 415

ES 2 537 062 T3

Val Pro Ile Trp Arg Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Ser Asp Ile Ser His Met Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val  
 35 40 45  
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 Pro Leu Pro Gln Ala Arg Ala Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140

Gly Cys  
 145

5 <210> 416  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> bovino

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (28)..()  
 <223> xaa es Gln o falta

<400> 416

ES 2 537 062 T3

Val Pro Ile Cys Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Xaa Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Leu  
 35 40 45  
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ala Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 Pro Leu Pro Gln Val Arg Ala Leu Glu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Val  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Arg Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

5 <210> 417  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (27)..()  
 <223> xaa es Thr o Ala

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (28)..()  
 <223> Xaa es Gln o falta

<400> 417



ES 2 537 062 T3

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Xaa Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile  
 35 40 45  
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

5

<210> 418  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> rhesus  
 <400> 418

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Ser Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val  
 35 40 45  
 Leu Thr Leu Ser Gln Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60

10

ES 2 537 062 T3

Leu Ile Asn Leu Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Ser Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 His Leu Pro Leu Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Asp  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

5  
 <210> 419  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus norvegicus*  
 <400> 419

Val Pro Ile His Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ala  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile  
 35 40 45  
 Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Leu Pro Ser Gln Asn Val Leu Gln Ile Ala His Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 Ser Leu Pro Gln Thr Arg Gly Leu Gln Lys Pro Glu Ser Leu Asp Gly  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Ile Leu Gln Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Glu Cys  
 145

10  
 15  
 20  
 <210> 420  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> género leptina

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (22)..()  
 <223> xaa es Asn, Asp o Glu  
 5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (27)..()  
 <223> Xaa es Thr o Ala  
 10

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (28)..()  
 <223> Xaa es Gln, Glu, o falta  
 15

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (54)..()  
 <223> xaa es Met o Ala  
 20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (68)..()  
 <223> Xaa es Met o Leu  
 25

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (72)..()  
 <223> xaa es Asn, Asp o Glu  
 30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (77)..()  
 <223> xaa es Ser o Ala  
 35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (118)..()  
 <223> xaa es Gly o Leu  
 40

<400> 420

ES 2 537 062 T3

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Xaa Asp Ile Ser His Xaa Xaa Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile  
 35 40 45  
 Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Xaa Pro Ser Arg Xaa Val Ile Gln Ile Xaa Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Xaa Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

5 <210> 421  
 <211> 146  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> género leptina

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (27)..()  
 <223> Xaa es Thr o Ala

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (77)..()  
 <223> xaa es ser o Ala

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (118)..()  
 <223> Xaa es Gly o Leu

<400> 421

ES 2 537 062 T3

Val Pro Ile Gln Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr  
 1 5 10 15  
 Ile Val Thr Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Xaa Gln Ser Val Ser Ser  
 20 25 30  
 Lys Gln Lys Val Thr Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Ile  
 35 40 45  
 Leu Thr Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala Val Tyr Gln Gln Ile  
 50 55 60  
 Leu Thr Ser Met Pro Ser Arg Asn Val Ile Gln Ile Xaa Asn Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Val Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 His Leu Pro Trp Ala Ser Gly Leu Glu Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly  
 100 105 110  
 Val Leu Glu Ala Ser Xaa Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg  
 115 120 125  
 Leu Gln Gly Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Gln Leu Asp Leu Ser Pro  
 130 135 140  
 Gly Cys  
 145

- 5 <210> 422
- <211> 105
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 10 <220>
- <223> género leptina
- 15 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (13)..()
- <223> xaa es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina
- 20 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (15)..()
- <223> Xaa es Gln o Glu
- 25 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (21)..()
- <223> Xaa es Gln o Glu
- 30 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (22)..()
- <223> Xaa es Gln o Glu
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE

<222> (27)..()  
<223> xaa es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (31)..()  
<223> Xaa es Asn, Asp o Gln

10 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (34)..()  
<223> xaa es Gln o Glu

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (37)..()  
<223> xaa es Asn, Asp o Gln

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (41)..()  
<223> xaa es Asn, Asp o Gln

25 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (59)..()  
<223> Xaa es Trp o Gln

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (89)..()  
<223> Xaa es Gln o Glu

35 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (93)..()  
<223> Xaa es Gln o Glu

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (95)..()  
<223> xaa es Ile, Leu, Met o sulfóxido de metionina

45 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (97)..()  
<223> xaa es Trp o Gln

50 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (98)..()  
<223> Xaa es Gln o Glu

55 <400> 422

ES 2 537 062 T3

Ile Pro Gly Leu His Pro Ile Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Asp Xaa Thr  
 1 5 10 15  
 Leu Ala Val Tyr Xaa Xaa Ile Leu Thr Ser Xaa Pro Ser Arg Xaa Val  
 20 25 30  
 Ile Xaa Ile Ser Xaa Asp Leu Glu Xaa Leu Arg Asp Leu Leu His Val  
 35 40 45  
 Leu Ala Phe Ser Lys Ser Cys His Leu Pro Xaa Ala Ser Gly Leu Glu  
 50 55 60  
 Thr Leu Asp Ser Leu Gly Gly Val Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ser Thr  
 65 70 75 80  
 Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Xaa Gly Ser Leu Xaa Asp Xaa Leu  
 85 90 95  
 Xaa Xaa Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys  
 100 105

- 5 <210> 423
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 10 <220>
- <223> género PPF
- <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (1)..()
- <223> xaa es Tyr o falta
- 15 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (2)..()
- <223> xaa es Ile, Pro o falta
- 20 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (3)..()
- <223> xaa es Ile, Lys modificada con Bolton-Hunter, Lys, val o Pro
- 25 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (4)..()
- <223> xaa es Lys, Lys modificada con Bolton-Hunter, Ala, Ser o Arg
- 30 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (7)..()
- <223> xaa es Ala, Gly o His
- 35 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (9)..()
- <223> xaa es Gly o Ala
- 40 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (12)..()
- <223> xaa es Ala o Pro

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (13)..()  
 <223> Xaa es Ser o Pro

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (14)..()  
 <223> xaa es Pro, Ala o Ser

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..()  
 <223> xaa es Glu o Asp

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (17)..()  
 <223> Xaa es Leu o Ile

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (18)..()  
 <223> Xaa es Asn o Ala

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (19)..()  
 <223> Xaa es Arg, Lys, Lys modificada con Bolton-Hunter, Gln o N(Me)Ala

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (21)..()  
 <223> Xaa es Tyr, Ala, Phe, Lys o Lys modificada con Bolton-Hunter

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (22)..()  
 <223> Xaa es Ala o Ser

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (23)..()  
 <223> Xaa es Ser, Ala, o Asp

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (25)..()  
 <223> Xaa es Arg, Lys o Lys modificada con Bolton-Hunter

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (26)..()  
 <223> Xaa es His, Ala o Arg

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (28)..()  
 <223> Xaa es Leu o Ile

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (30)..()  
 <223> Xaa es Leu o Met

<220>



<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (31)..()  
 <223> Xaa es val, Ile, o Leu

5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (35)..()  
 <223> xaa es Lys, Lys modificada con Bolton-Hunter o Arg

10

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (36)..()  
 <223> Xaa es Tyr, Trp o Phe

15

<400> 423

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Pro	Glu	Xaa	Pro	Xaa	Glu	Asp	Xaa	Xaa	Xaa	Glu	Xaa
1				5				10					15		
Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Xaa	Xaa	Xaa	Leu	xaa	xaa	Tyr	xaa	Asn	xaa	Xaa	Thr
			20					25					30		

Arg Gln Xaa Xaa  
                   35

20

<210> 424  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> género PPF

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> Xaa es Tyr o falta

35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..()  
 <223> Xaa es Ile, Pro o falta

40

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..()  
 <223> Xaa es Lys, Lys modificada con Bolton-Hunter, Ala, Ser o Arg

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..()  
 <223> Xaa es Glu, Gln, Ala, Asn, Asp o val

50

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..()  
 <223> xaa es Gly o Ala

55

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..()  
 <223> xaa es Glu, Ala, Asp, Asn, Gln, Gly, Pro o Aib

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (11)..()  
 <223> Xaa es Glu, Ala, Asp, Asn, Gln, Gly, Pro o Aib

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..()  
 <223> xaa es Ala o Pro

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (13)..()  
 <223> Xaa es Ser o Pro

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (14)..()  
 <223> Xaa es Pro, Ala o Ser

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (15)..()  
 <223> xaa es Glu, Ala, Asp, Asn, Gln, Gly, Pro o Aib

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..()  
 <223> xaa es Glu o Asp

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (17)..()  
 <223> xaa es Leu o Ile

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (19)..()  
 <223> xaa es Arg, Lys, Lys modificada con BH, Gln o N(Me)Ala

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (21)..()  
 <223> xaa es Tyr, Ala, Phe, Lys o Lys modificada con BH

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (22)..()  
 <223> xaa es Ala o Ser

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (23)..()  
 <223> xaa es Ser, Ala, o Asp

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (25)..()  
 <223> xaa es Arg, Lys o Lys modificada con Bolton-Hunter

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (26)..()  
 <223> xaa es His, Ala, o Arg

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (27)..()  
 <223> Xaa es Tyr o Phe

<220>

ES 2 537 062 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (28)..()  
 <223> xaa es Leu o Ile  
 5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (29)..()  
 <223> xaa es Asn o Gln  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (30)..()  
 <223> Xaa es Leu o Met  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (31)..()  
 <223> Xaa es val, Ile o Leu  
 20 <400> 424  
 Xaa Xaa Pro Xaa Pro Xaa His Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
 Xaa Ala Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr  
 20 25 30  
 Arg Gln Arg Tyr  
 35  
 25 <210> 425  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> quimera PPY-NPY  
 <400> 425  
 Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln  
 20 25 30  
 Arg Tyr  
 35 <210> 426  
 <211> 59  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40 <220>  
 <223> híbrida  
 45 <400> 426

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Lys Cys Asn Thr Ala  
20 25 30

Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg Leu Gln Thr  
35 40 45

Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55

5 <210> 427  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> híbrida

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (30)..(30)  
<223> tirosina (SO3H) sulfatada

<400> 427

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Asp Tyr Met Gly  
20 25 30

Trp Met Asp Phe  
35

20 <210> 428  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> híbrida

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (30)..(30)  
<223> tirosina (CH2SO3H) sulfatada

<400> 428

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Asp Tyr Met Gly  
20 25 30

Trp Met Asp Phe  
35

35 <210> 429  
<211> 63  
<212> PRT  
<213> Artificial

40 <210> 429  
<211> 63  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 537 062 T3

<220>  
<223> híbrida

5 <400> 429

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15  
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Gly Lys  
20 25  
Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His  
35 40 45  
Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
50 55 60

10 <210> 430  
<211> 67  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> híbrida

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (29)..(30)  
20 <223> enlazador beta-Alanina beta-Alanina

<400> 430

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
1 5 10 15  
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Lys Cys  
20 25 30  
Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val Arg  
35 40 45  
Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly Ser  
50 55 60  
Asn Thr Tyr  
65

25 <210> 431  
<211> 62  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> híbrida

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (29)..(30)  
35 <223> enlazador beta-Alanina beta-Alanina

40 <400> 431

ES 2 537 062 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu  
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Xaa Xaa Lys Cys  
 20 25 30

Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His Arg  
 35 40 45

Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 50 55 60

5 <210> 432  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> componente híbrido  
 <400> 432

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His  
 1 5 10 15

Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 20 25 30

15 <210> 433  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> componente híbrido  
 <220>

25 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> xaa es succinimida beta-Alanina  
 <400> 433

Xaa Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu  
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg  
 20 25 30

Gln Arg Tyr  
 35

35 <210> 434  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> componente híbrido  
 <220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es tiopropil beta-Alanina

ES 2 537 062 T3

<400> 434

Xaa Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu  
1 5 10 15

Leu His Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr  
20 25 30

Tyr

5

<210> 435  
<211> 35  
<212> PRT  
<213> Artificial

10

<220>  
<223> componente hibrido

15

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(1)  
<223> xaa es maleimida butil beta-Alanina

20

<400> 435

Xaa Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu  
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg  
20 25 30

Gln Arg Tyr  
35

25

<210> 436  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Artificial

30

<220>  
<223> componente hibrido

<400> 436

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val  
1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly  
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr  
35

35

<210> 437  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

40

<220>  
<223> componente hibrido

<220>  
<221> MISC\_FEATURE

ES 2 537 062 T3

<222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es maleimida butil beta-Alanina

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> fenilalanina (CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H) sulfatada

10 <400> 437  
 Xaa Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe  
 1 5

15 <210> 438  
 <211> 43  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20 <220>  
 <223> híbrida

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> fenilalanina (para-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) sulfatada

<400> 438  
 Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe Gly Lys Arg Lys Cys Asn Thr Ala  
 1 5 10 15  
 Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Glu Leu Val Arg Leu Gln Thr  
 20 25 30  
 Tyr Pro Arg Thr Asn Val Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35 40

30 <210> 439  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35 <220>  
 <223> componente híbrido

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> xaa es succinimida beta-Alanina

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> fenilalanina (CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H) sulfatada

<400> 439

50 Xaa Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe  
 1 5

55 <210> 440  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

<220>



<223> componente híbrido

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> acetilo N-terminal

5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (14)..(15)  
 <223> beta-Alanina beta-Alanina

10

<400> 440

15

	Ser	Tyr	Ser	Met	Glu	His	Phe	Arg	Trp	Gly	Lys	Pro	Val	Xaa	Xaa	Lys
	1				5					10					15	

<210> 441  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

20

<220>  
 <223> componente híbrido

25

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (29)..(30)  
 <223> enlazador beta-Alanina beta-Alanina

30

<400> 441

	His	Gly	Glu	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Gln	Met	Glu	Glu
	1				5					10					15	

	Glu	Ala	Val	Arg	Leu	Phe	Ile	Glu	Trp	Leu	Lys	Asn	Xaa	Xaa	Lys	Cys
				20					25					30		

<210> 442  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

35

<220>  
 <223> híbrida

40

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> acetilo N-terminal

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (14)..(15)  
 <223> beta-Alanina beta-Alanina

50

<400> 442

ES 2 537 062 T3

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val Xaa Xaa Lys  
 1 5 10 15

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Val Leu Gly Arg Leu Ser Gln Glu Leu His  
 20 25 30

Arg Leu Gln Thr Tyr Pro Arg Thr Asn Thr Gly Ser Asn Thr Tyr  
 35 40 45

5 <210> 443  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> híbrida

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> acetilo N-terminal

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (14)..(15)  
 <223> beta-Alanina beta-Alanina

<400> 443

Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp Gly Lys Pro Val Xaa Xaa Ile  
 1 5 10 15

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg  
 20 25 30

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg  
 35 40 45

Tyr

25 <210> 444  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> componente híbrido

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> tiopropil beta-Alanina

<400> 444

Xaa Phe Leu Phe His Tyr Ser Lys Thr Gln Lys Leu Gly Lys Ser Asn  
 1 5 10 15

Val Val Glu Glu Leu Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr  
 20 25 30

Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 35

40

<210> 445  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> componente híbrido  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> succinimida beta-Alanina  
 10  
 <400> 445  
 15  
 Xaa Phe Leu Phe His Tyr Ser Lys Thr Gln Lys Leu Gly Lys Ser Asn  
 1 5 10 15  
 Val Val Glu Glu Leu Gln Ser Pro Phe Ala Ser Gln Ser Arg Gly Tyr  
 20 25 30  
 Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn  
 35  
 <210> 446  
 <211> 34  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 20  
 <220>  
 <223> componente híbrido  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> succinimida N-terminal  
 30  
 <400> 446  
 Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg Gln  
 20 25 30  
 Arg Tyr  
 35  
 <210> 447  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 40  
 <220>  
 <223> componente híbrido  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> succinimida beta-Alanina  
 45  
 <400> 447

ES 2 537 062 T3

Xaa Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu  
1 5 10 15

Ala Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg  
20 25 30

Gln Arg Tyr  
35

5 <210> 448  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> componente hibrido  
  
<400> 448

Asp Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp  
1 5 10 15

Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr  
20 25 30

Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln Arg Tyr  
35 40

15 <210> 449  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> componente hibrido

25 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (2)..()  
<223> xaa es un enlazador de mini-PEG3

<400> 449

Asp Xaa Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu  
1 5 10 15

Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val  
20 25 30

Thr Arg Gln Arg Tyr  
35

30 <210> 450  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> componente hibrido

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..()  
<223> xaa es tiopropil beta-Alanina

ES 2 537 062 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..()  
 5 <223> fenilalanina (CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H) sulfatada  
  
 <400> 450  
  
 Xaa Asp Phe Met Gly Trp Met Asp Phe  
 1 5  
 10  
 <210> 451  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 15  
 <220>  
 <223> componente hibrido  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> xaa es tiopropil beta-Alanina  
 20  
 <400> 451  
 25  
 Xaa Asp Tyr Met Gly Trp Met Asp Phe  
 1 5  
  
 <210> 452  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 30  
 <220>  
 <223> componente hibrido  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> maleimida butil beta-Alanina  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..()  
 <223> xaa es maleimida butil beta-Alanina  
 45  
 <400> 452  
  
 Xaa Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu  
 1 5 10 15  
  
 Ala Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr Arg  
 20 25 30  
  
 Gln Arg Tyr  
 35  
 50  
 <210> 453  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 55  
 <220>  
 <223> componente hibrido

ES 2 537 062 T3

<400> 453

Cys Gly Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val  
 20 25 30  
 Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35

5 <210> 454  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> componente hibrido

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 15 <222> (2)..()  
 <223> xaa es un enlazador de mini-PEG

<400> 454

Asp xaa Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu  
 1 5 10 15  
 Glu Leu Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val  
 20 25 30  
 Thr Arg Gln Arg Tyr  
 35

20 <210> 455  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 25 <213> Artificial

<220>  
 <223> componente hibrido

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..()  
 <223> Xaa es beta-Alanina

35 <400> 455

Cys xaa Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg  
 20 25 30  
 Gln Arg Tyr  
 35

40 <210> 456  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

ES 2 537 062 T3

<220>

<223> componente hibrido

5

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..()

<223> Xaa es beta-Alanina

10

<400> 456

Gly Xaa Pro Lys Pro Glu His Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu  
 1 5 10 15

Leu Ala Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Ile Asn Leu Ile Thr  
 20 25 30

Arg Gln Arg Tyr  
 35

15

<210> 457

<211> 36

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 457

Tyr Pro Ser Lys Pro Asp Asn Pro Gly Glu Asp Ala Pro Ala Glu Asp  
 1 5 10 15

Met Ala Arg Tyr Tyr Ser Ala Leu Arg His Tyr Ile Asn Leu Ile Thr  
 20 25 30

20

Arg Gln Arg Tyr  
 35

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un polipéptido híbrido que presenta al menos dos actividades hormonales, comprendiendo dicho polipéptido un primer módulo hormonal peptídico bioactivo ligado por enlace covalente a al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo adicional, en el que:
- la primera hormona peptídica bioactiva es exendina-4 o un análogo de la misma que tiene una identidad de secuencia de al menos 50 % con la exendina-4 (SEC ID N°:66);  
 10 el al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo adicional es amilina, un análogo de la misma que tiene una identidad de secuencia de al menos 50 % con la amilina (SEC ID N°:45), o hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCT(8- 27)-Amilina(33-37) (SEC ID N°:396);  
 los módulos hormonales peptídicos bioactivos están unidos por enlace covalente usando un enlazador de glicina; la primera hormona peptídica bioactiva es un agonista del receptor de GLP-1 y presenta la actividad de secreción de insulina de la exendina-4; y  
 15 la al menos una hormona peptídica bioactiva adicional presenta la actividad de reducción de ingesta de alimento de la amilina.
2. El polipéptido híbrido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la al menos una hormona peptídica bioactiva adicional se une al receptor de amilina.
- 20 3. El polipéptido híbrido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la al menos una hormona peptídica bioactiva adicional tiene una identidad de secuencia de al menos 50 % con la hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCT(8- 27)-Amilina(33-37) y es un agonista del receptor de calcitonina (CTR).
- 25 4. El polipéptido híbrido de la reivindicación 1, en el que el al menos un módulo hormonal peptídico bioactivo adicional se selecciona del grupo que consiste en: hAmilina(1-7)-<sup>11,18</sup>Arg-sCT(8- 27)-Amilina(33-37) y <sup>25,28,29</sup>Pro-h-Amilina.
- 30 5. El polipéptido híbrido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el primer péptido bioactivo está ligado por su extremo C al extremo N del al menos un péptido bioactivo adicional.
6. El polipéptido híbrido de la reivindicación 5, en el que el enlazador de glicina tiene una longitud de 1 a 30 restos.
7. El polipéptido híbrido de la reivindicación 6, en el que el enlazador tiene una longitud de 3 a 30 restos.
- 35 8. El polipéptido híbrido de la reivindicación 7, en el que el enlazador comprende Gly-Gly-Gly.
9. El polipéptido híbrido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el extremo C-terminal del polipéptido híbrido está amidado.
- 40 10. El polipéptido híbrido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el análogo de exendina tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos 80 % con la exendina 4.
- 45 11. El polipéptido híbrido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el análogo de exendina tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos 90 % con la exendina-4.
12. El polipéptido híbrido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en el que el análogo de amilina tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos 80 % con la amilina.
- 50 13. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido híbrido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
14. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, para su uso en el tratamiento de la diabetes.
- 55 15. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 14 en la que la diabetes es diabetes de tipo II.



Figura 1: Efecto de los Híbridos de Exendina/PYY en Ratones OID

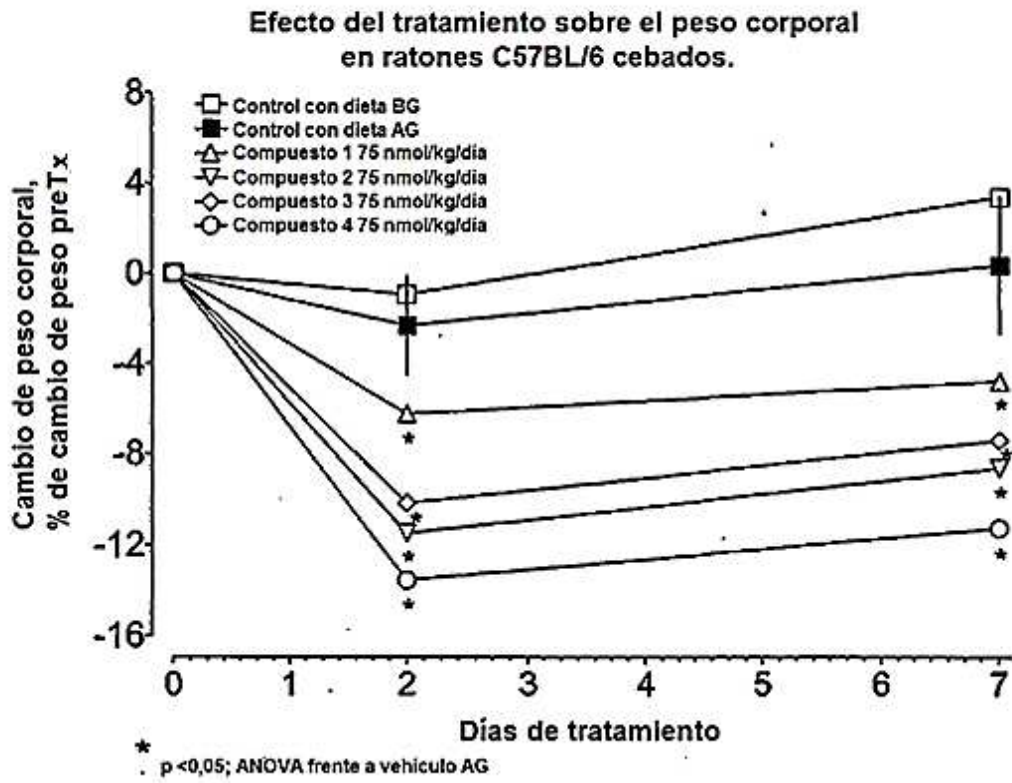


Figura 2: Efecto de los Híbridos de Exendina/Amilina en Ratones OID

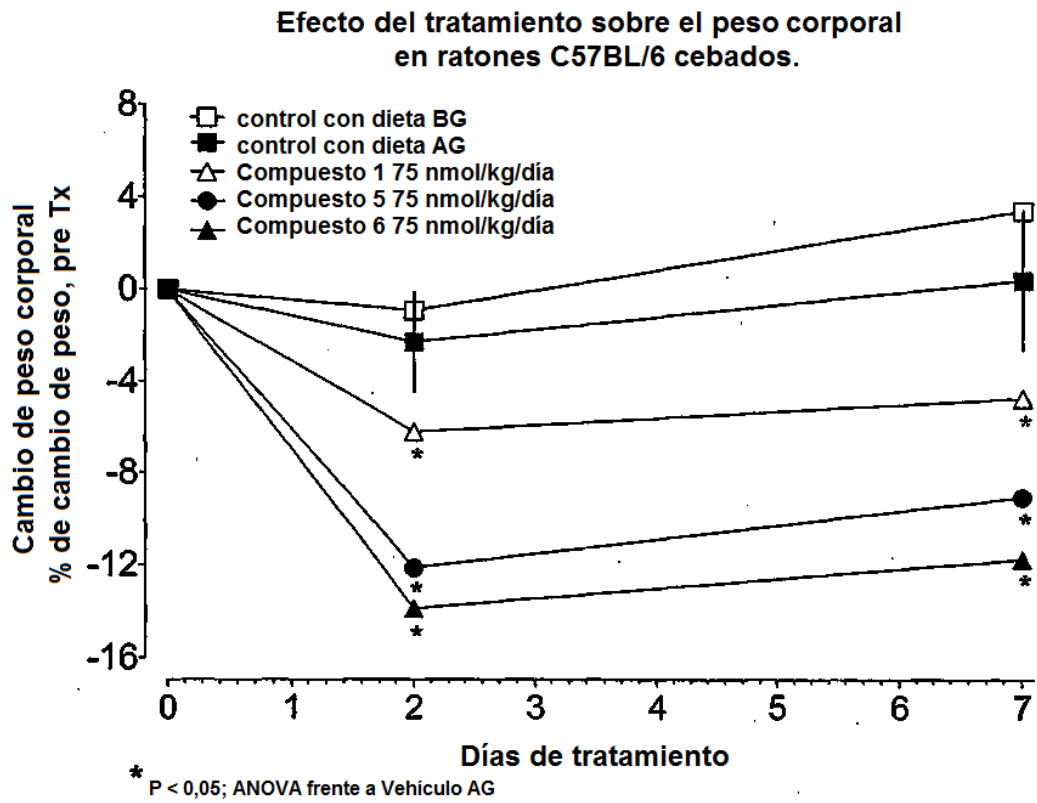


Figura 3A: Efecto de los Híbridos de Exendina/CCK-8 en OID

**Efecto del tratamiento sobre el peso corporal en ratones C57BL/6 cebados**

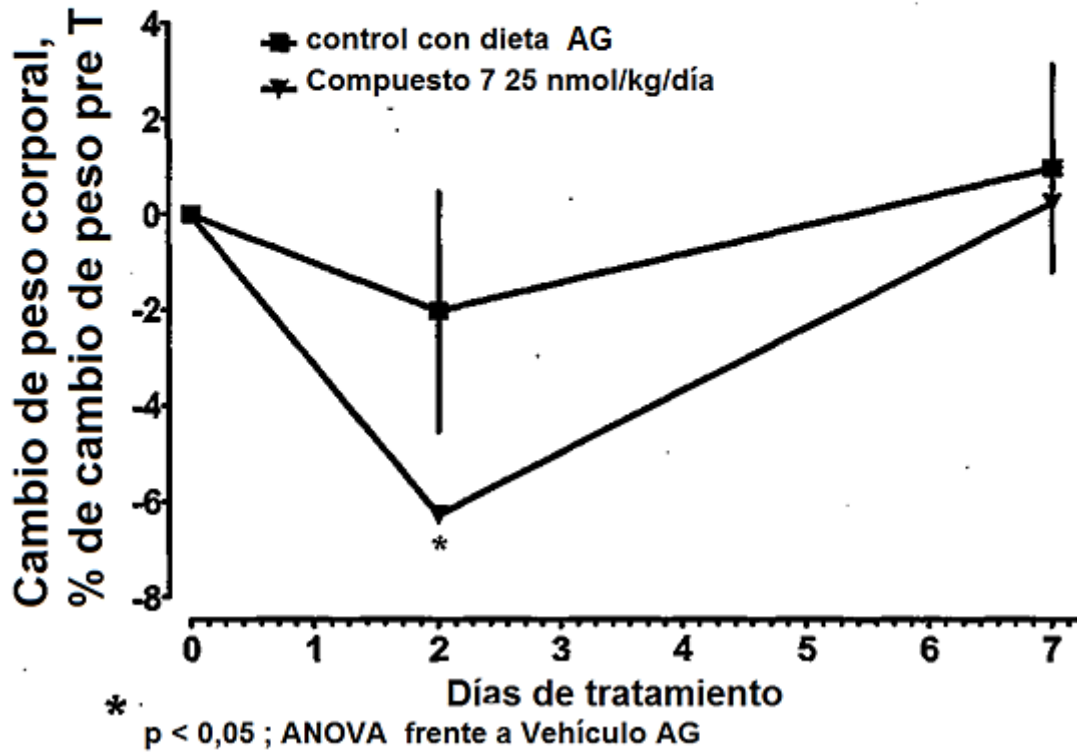


Figura 3B: Efecto de los Híbridos de Exendina/CCK-8 en OID

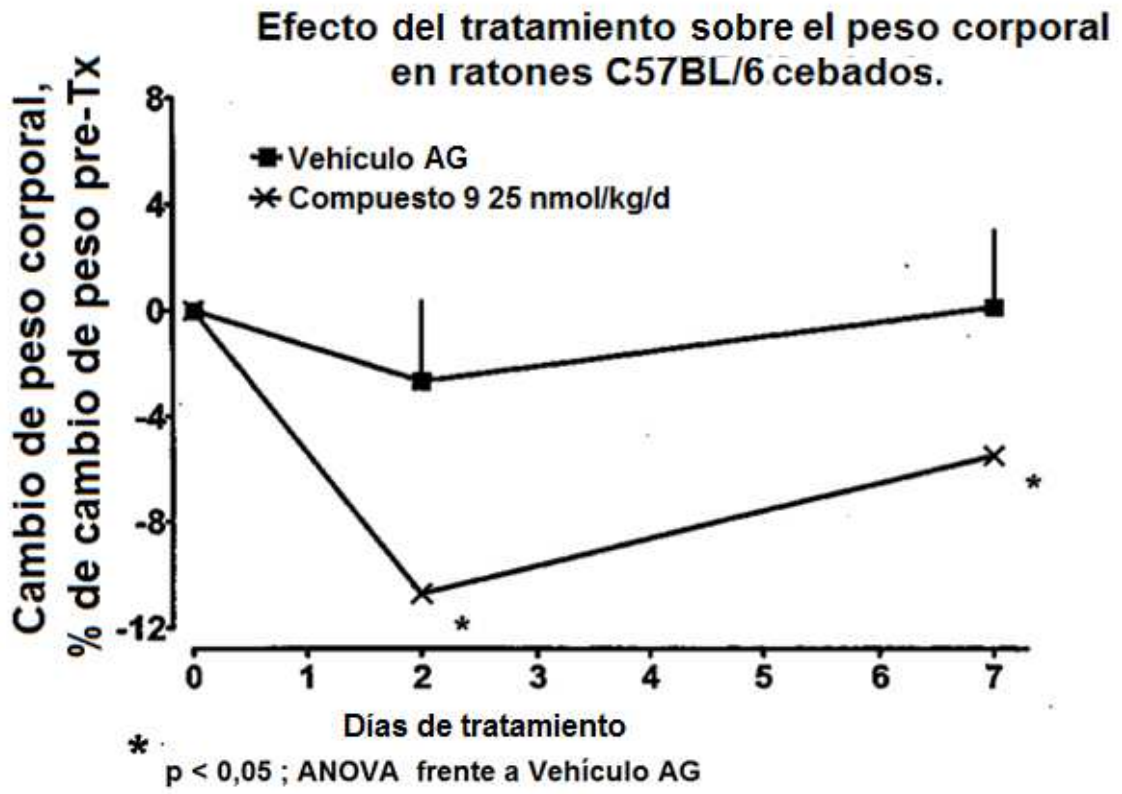


Figura 3C: Efecto de los Híbridos de Exendina/CCK-8 en OID

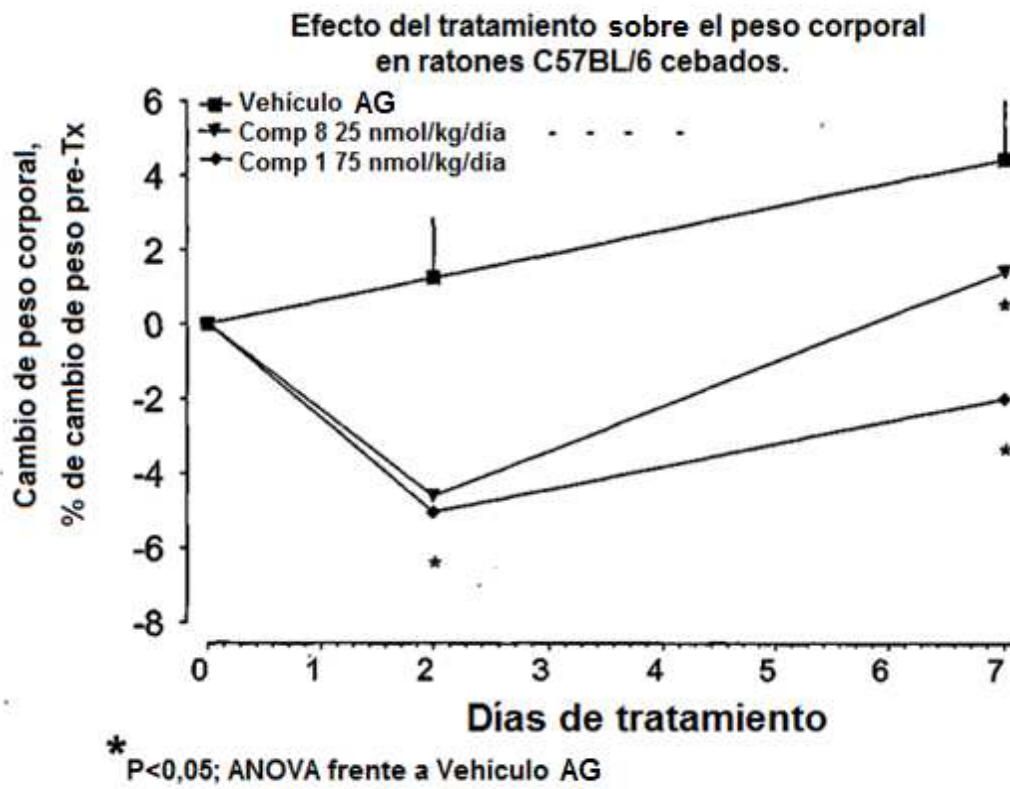


Figura 4A. Efecto de los Compuestos de la Invención en un Ensayo de Ingesta de Alimento (Comparado con los Compuestos Parentales)

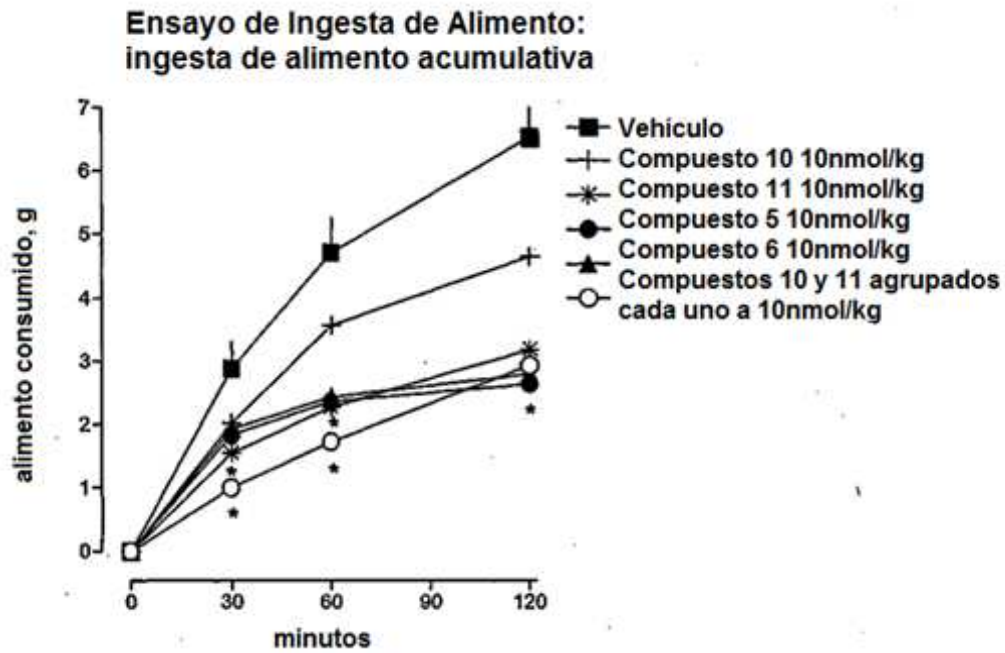


Figure 4B. Efecto de los Compuestos de la Invención en un Ensayo de Ingesta de Alimento (Comparado con los Compuestos Parentales)

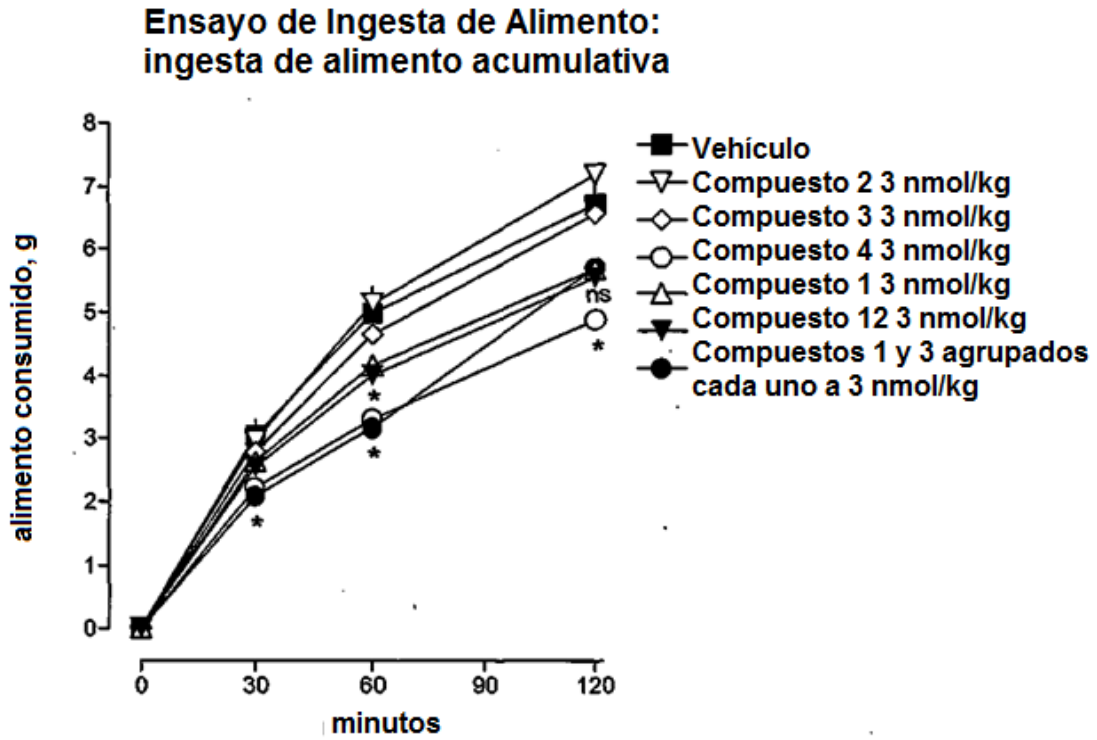
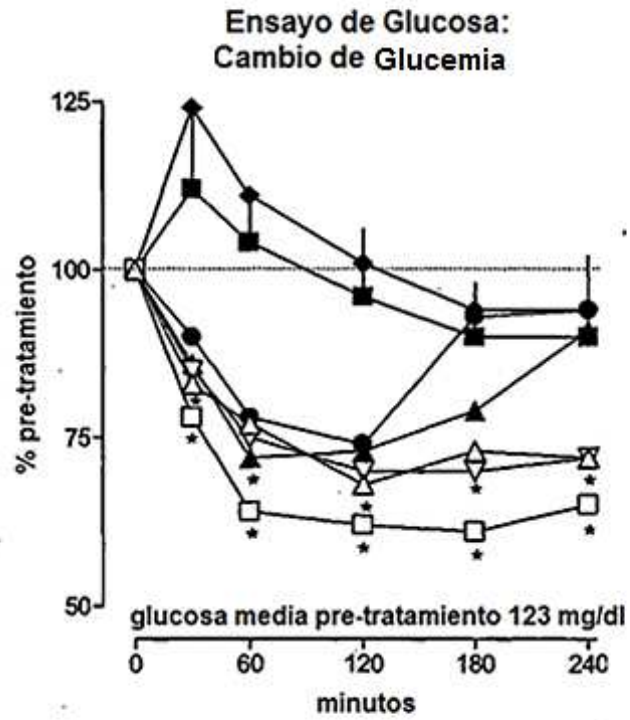


Figura 5A. Efecto de los Compuestos de la Invención sobre la Glucemia

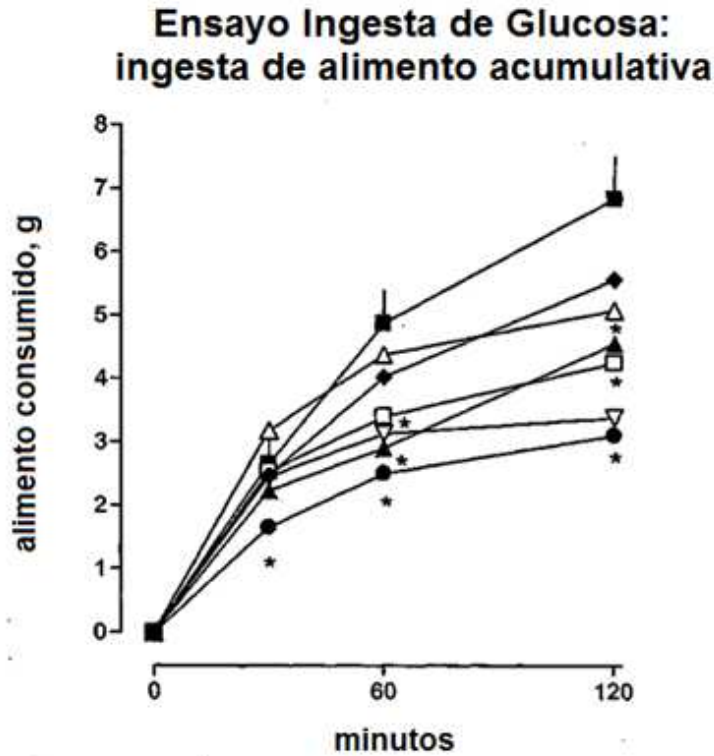


**Leyenda del Ensayo de Glucosa:**

- Vehículo
- ▲ Compuesto 11                    16 nmol/kg
- ◆ Compuesto 10                    16 nmol/kg
- Compuesto 10 y 11            cada uno a 16 nmol/kg
- ▽ Compuesto 15                    16 nmol/kg
- Compuesto 5                     16 nmol/kg
- △ Compuesto 5                     16 nmol/kg



Figura 5B. Efecto de los Compuestos de la Invención en un Ensayo de Ingesta de Alimento



Legenda del Ensayo de Ingesta de Alimento:

- Vehículo
- ▲ Compuesto 11      3 nmol/kg
- ◆ Compuesto 10      3 nmol/kg
- Compuesto 10 y 11 cada uno a 3 nmol/kg
- ▽ Compuesto 15      3 nmol/kg
- Compuesto 14      3 nmol/kg
- △ Compuesto 5      3 nmol/kg

Figura 6

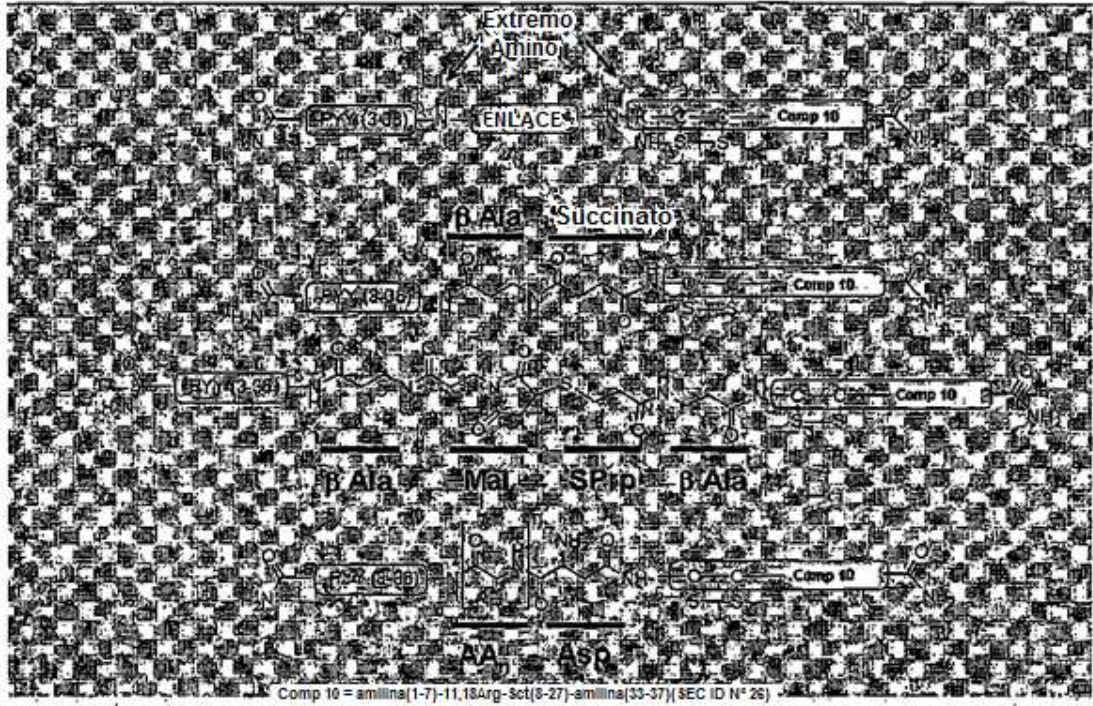


Figura 7

Phibrido	Compuesto N°	Enlazador	In Vitro	
			RBA	Ensayo funcional
PYY (3-36)	5401		0.48 Y2 RBA	8.3 CT CYCL
PYY (3-36)	4753		0.085 CT RBA	7.5 CT CYCL
Comp 10	5582		0.5 Y2 RBA	10.1 CT CYCL
PYY (3-36)	5598		0.064 CT RBA	7.61 CT CYCL
Comp 10	5426		0.31 Y2 RBA	645 CT CYCL
PYY (3-36)	5561		0.39 Y2 RBA	27.2 CT CYCL
Comp 10	5562		46 CT RBA	3.86 CT CYCL
PYY (3-36)	5483		2.3 Y2 RBA	
Comp 10	5483		0.11 CT RBA	
Comp 10	5483		1.3 Y2 RBA	
Comp 10	5483		0.084 CT RBA	
Comp 10	5483		0.026 CT RBA	0.63 - 0.01 CT CYCL
Comp 10	5483		0.7 - 5.5 CT RBA	200 - 400 CT CYCL
Comp 10	5483	0.05 - 0.1 Y2 RBA		
Comp 10	5483	0.08 Y2 RBA		

Figura 8


Phibrido	Compuesto N°	Enlazador	In Vitro	
			RBA	Ensayo funcional
PYY (3-36)	5425	 <p>PYY - P - P - P - P - P - P - P - D - C - G - G - PYY</p> <p>PYY - G - Minipeg - D - C - G - G - PYY</p> <p>PYY - G - G - Minipeg3 - D - C - G - G - PYY</p>	1.2 Y2 RBA	2271 CT CYCL
PYY (3-36)	5567		643 CT RBA	
PYY (3-36)	5568		0.80 Y2 RBA	
PYY (3-36)	5581		0.79 Y2 RBA	
PYY (3-36)			0.84 Y2 RBA	
Control			In Vitro	
PYY(3-36)			0.05 - 0.1 Y2 RBA	
Compuesto 4883			0.00 Y2 RBA	

Figura 9 Efecto del Compuesto sobre el Peso Corporal en Ratas Durante un Tratamiento de 14 Días

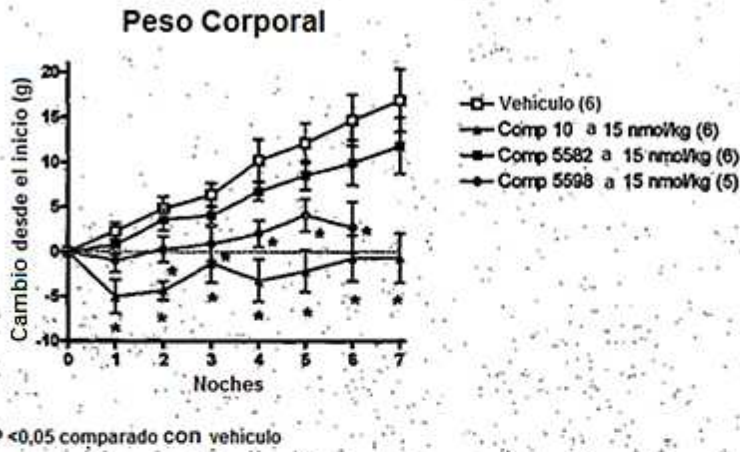


Figura 10 Efecto del Tratamiento sobre el calcio

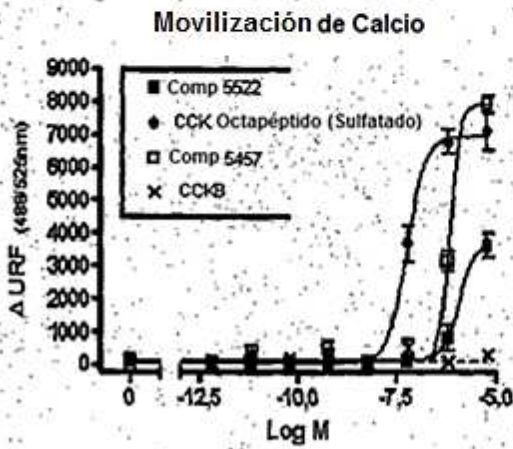


Figura 11A Efecto del Tratamiento en Ratones sobre la Ingesta de Alimento

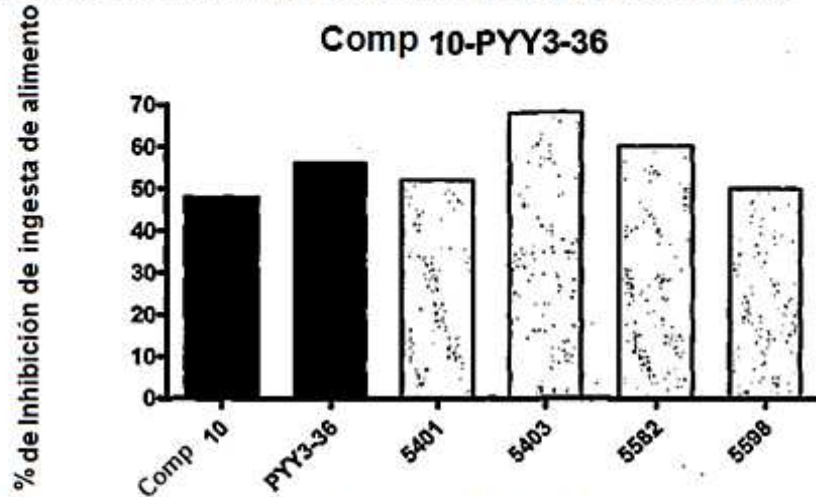


Figura 11B Efecto del Tratamiento en Ratones sobre la Ingesta de Alimento

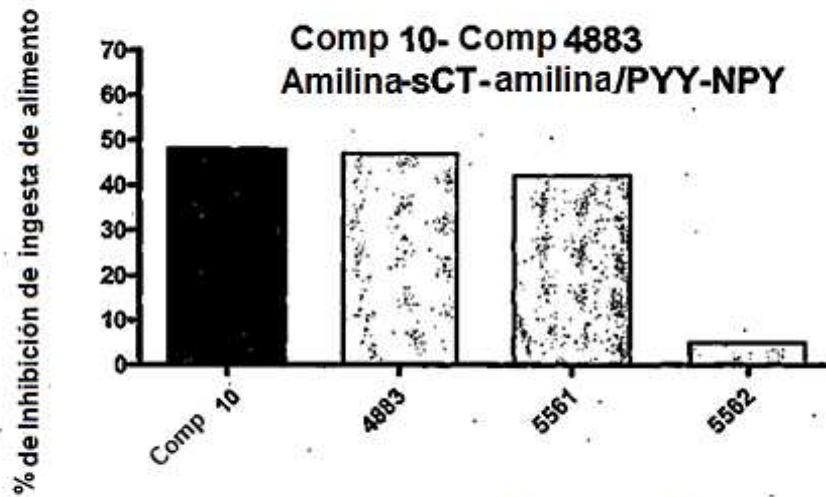


Figura 11C Efecto del Tratamiento en Ratones sobre la Ingesta de Alimento

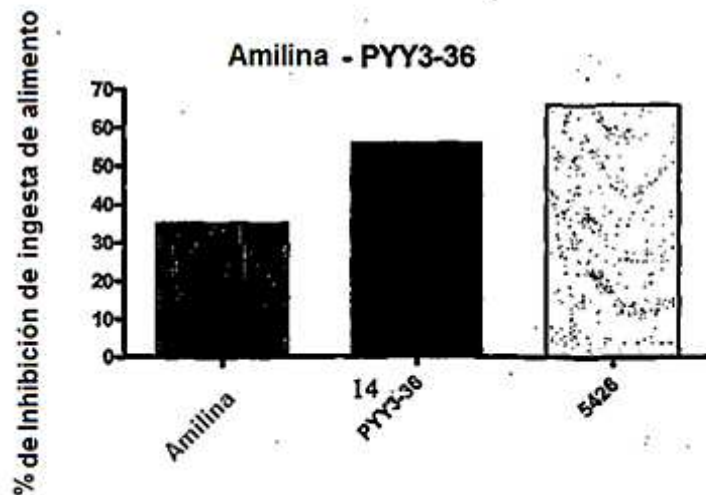
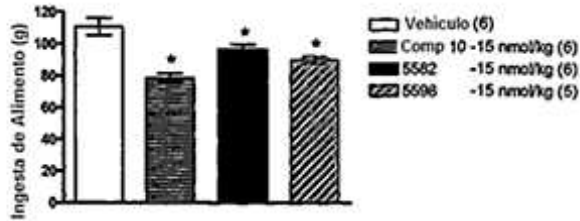
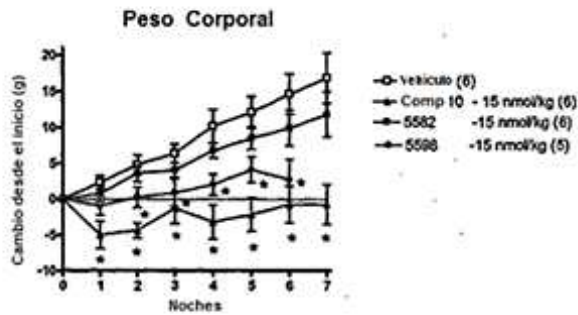


Figura 12A Efecto del Compuesto en Ratas sobre la Ingesta de Alimento Total Después de 6 Noches de Tratamiento  
Ingesta de Alimento Total (6 Noches)



\* P < 0,05 comparado con vehiculo

Figura 12B Efecto del Compuesto sobre el Peso Corporal Durante 6-7 Noches de Tratamiento



\* P < 0,05 comparado con vehiculo

Figura 13 Efecto en Ratones del Tratamiento sobre la Ingesta de Alimento

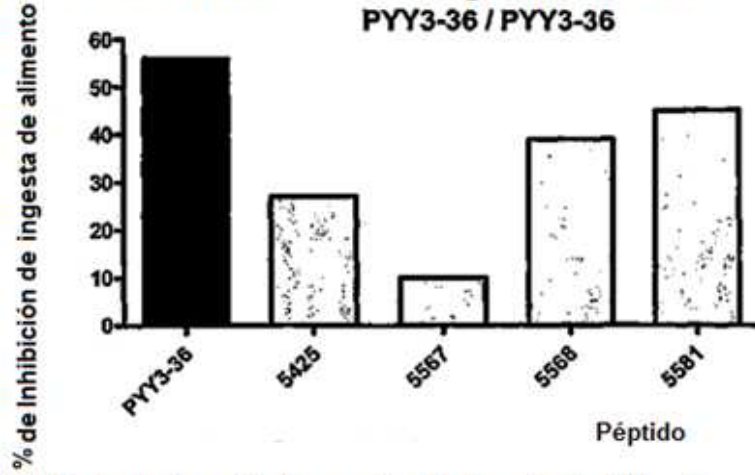


Figura 14A Efecto del Tratamiento en Ratones sobre la Ingesta de Alimento

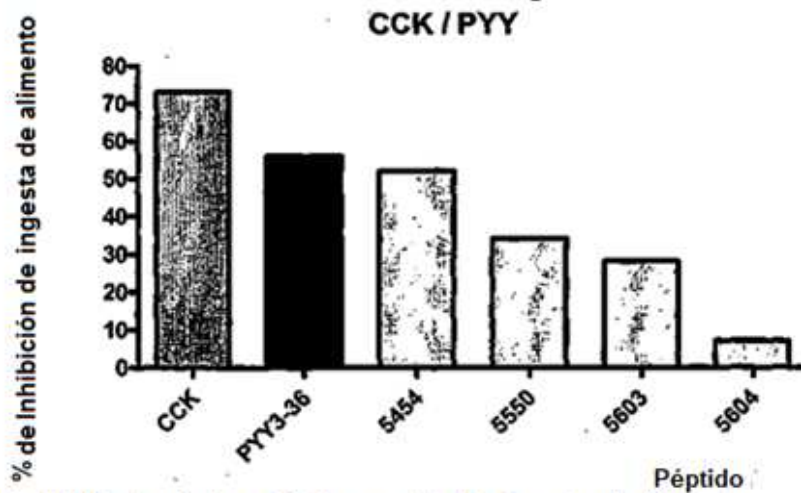


Figura 14B Efecto del Tratamiento en Ratones sobre la Ingesta de Alimento

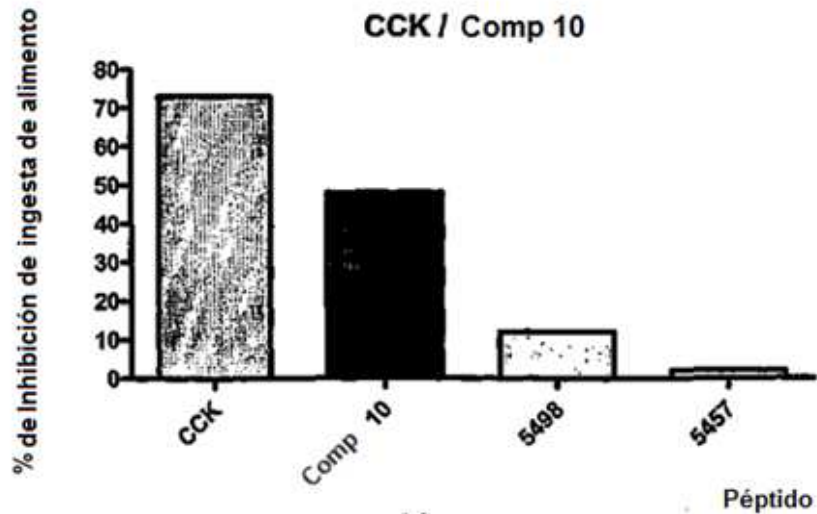




Figura 15A Efecto en Ratones del Tratamiento sobre la Ingesta de Alimento

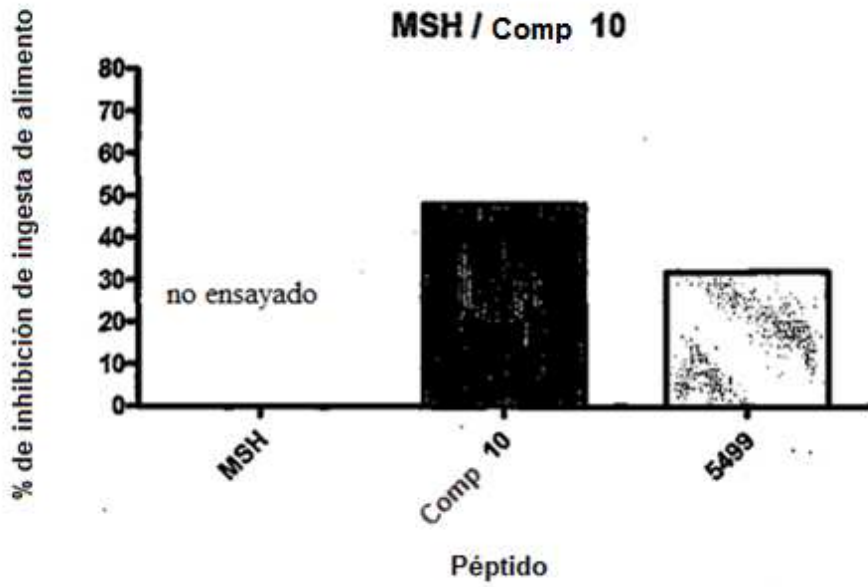


Figura 15B Efecto en Ratones del Tratamiento sobre la Ingesta de Alimento

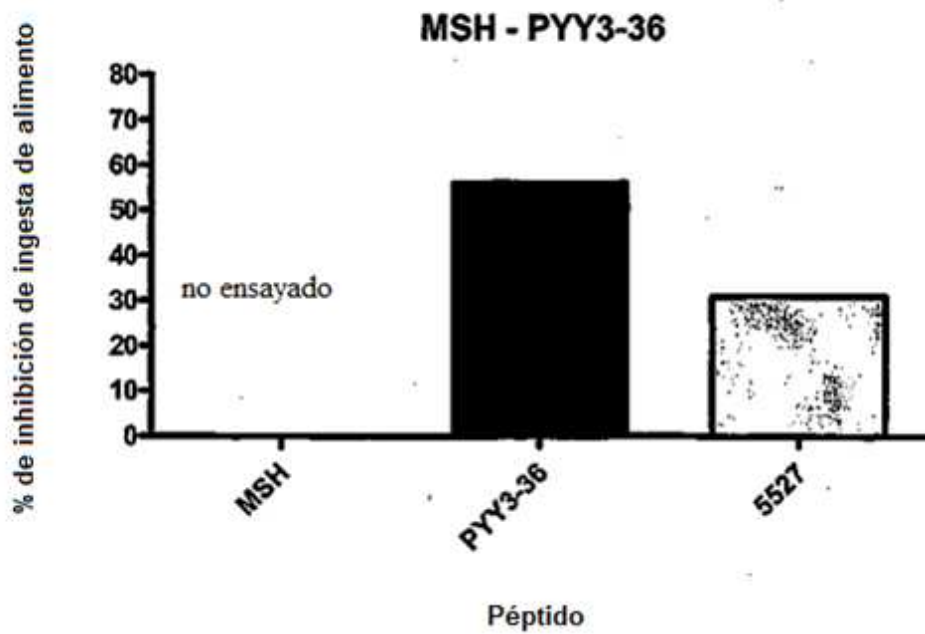
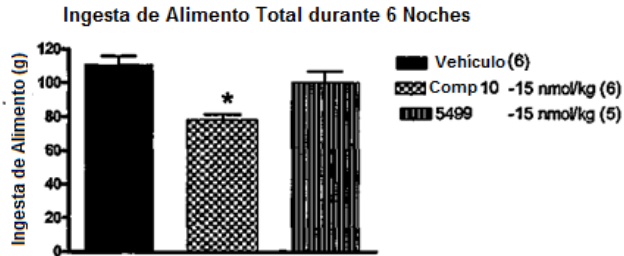
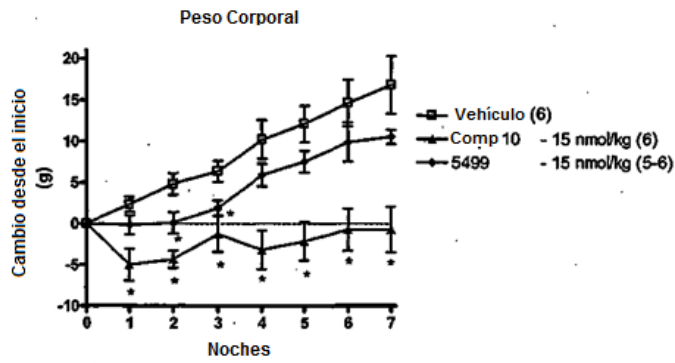


Figura 16A Efecto del Compuesto en Ratas sobre la Ingesta de Alimento Total Después de 6 Noches de Tratamiento



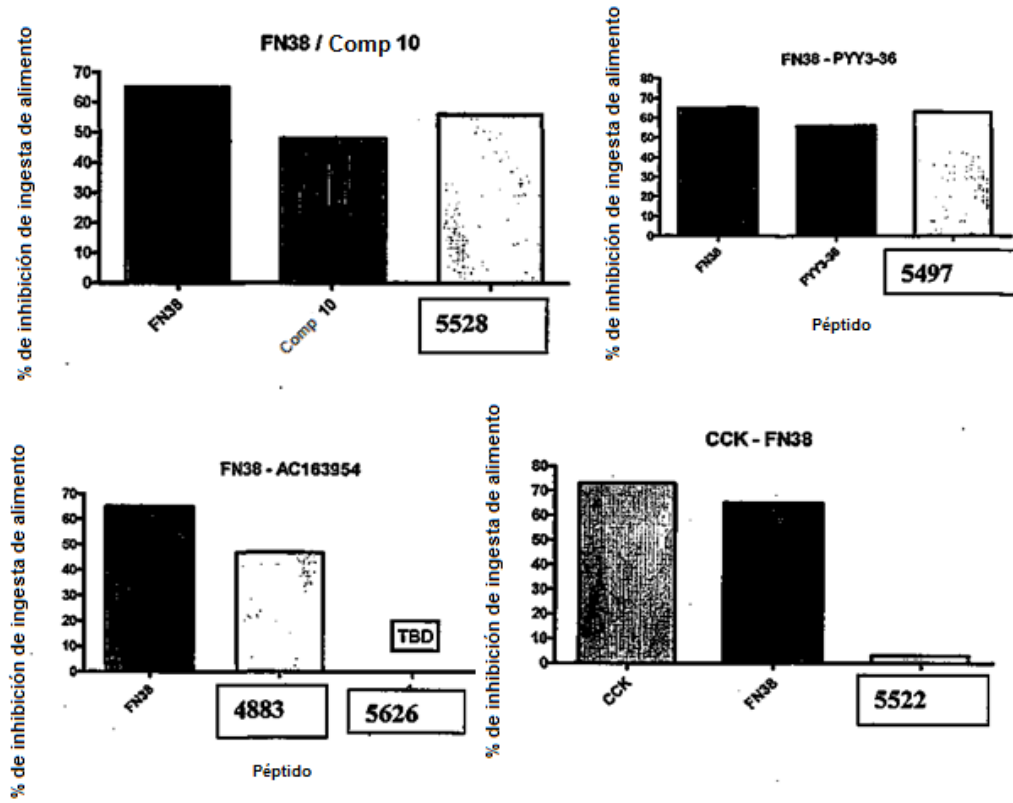
\* P < 0,05 comparado con Vehículo

Figura 16B Efecto del Compuesto en Ratas sobre el Peso Corporal Durante 7 días de Tratamiento



\* P < 0,05 comparado con Vehículo

Figuras 17A, B, C Efecto del Tratamiento en Ratones sobre la Ingesta de Alimento



Figuras 18A y 18B Efecto en Ratones del Tratamiento sobre la Ingesta de Alimento

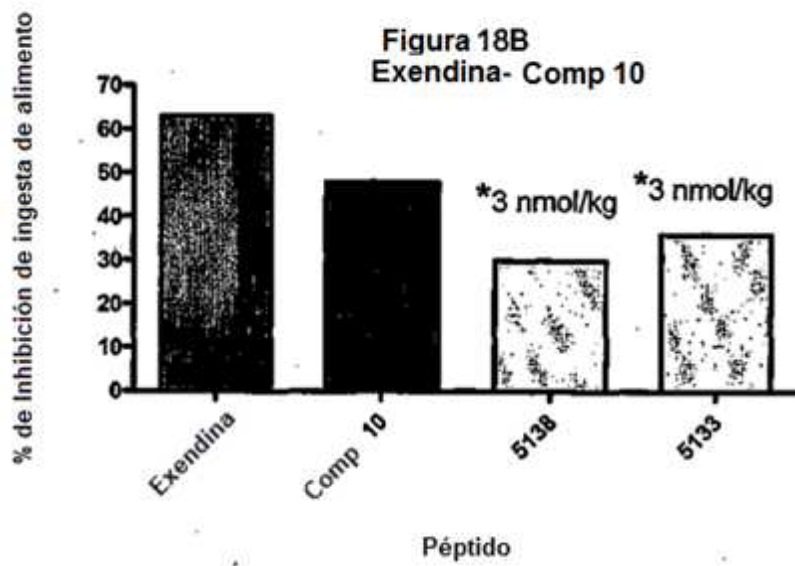
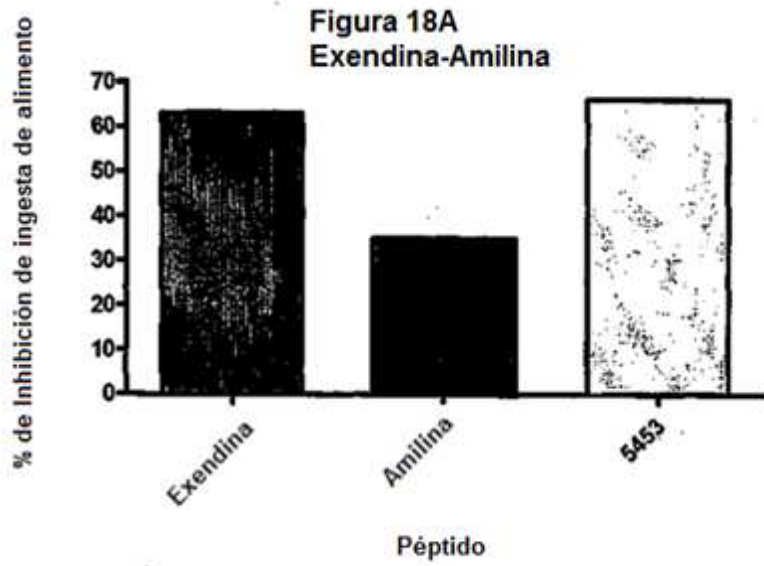


Figura 19A Efecto del Compuesto en Ratas sobre la Ingesta de Alimento Acumulativa en 23 Horas

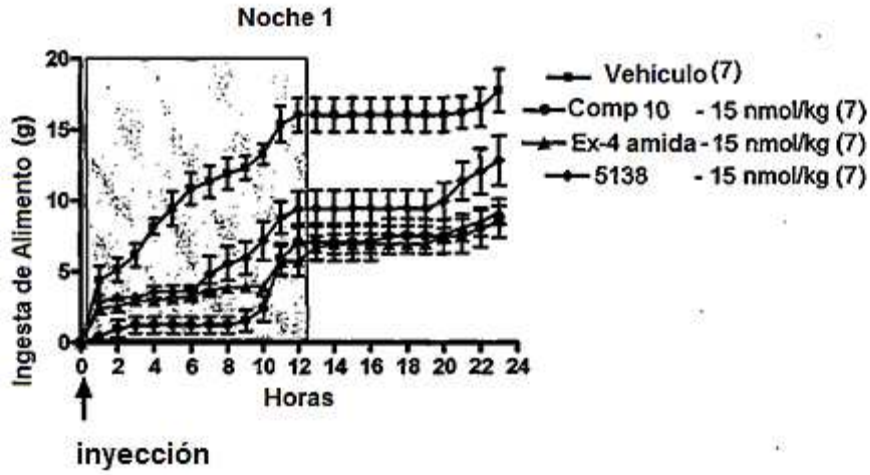


Figura 19B Efecto del Compuesto en Ratas sobre la Ingesta de Alimento Total Después de 14 Días de Tratamiento

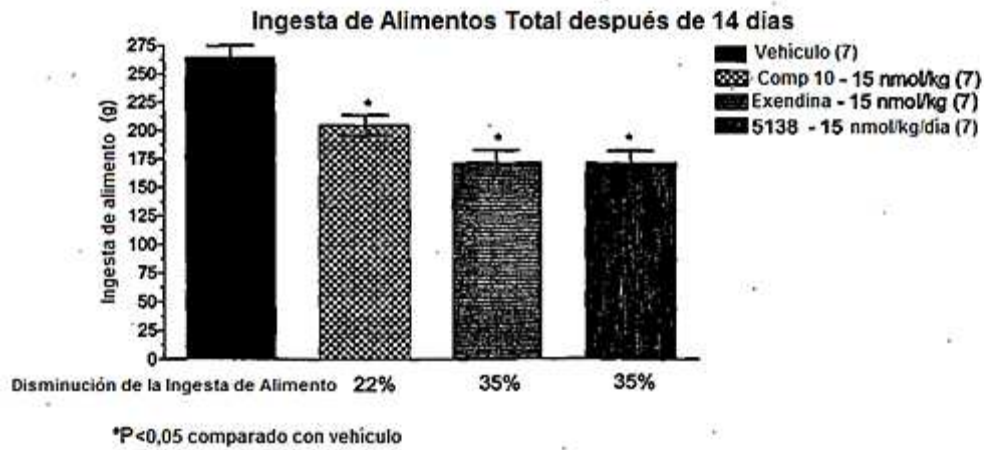


Figura 20A Efecto del Compuesto en Ratas sobre el Peso Corporal Durante 14 Noches de Tratamiento

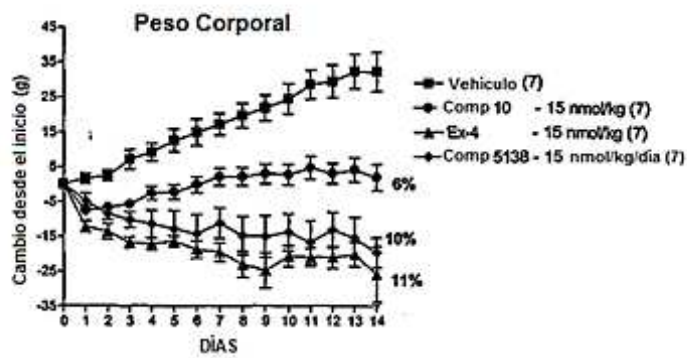
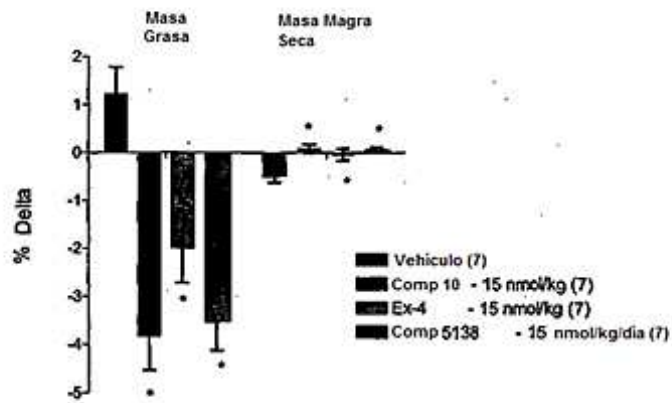


Figura 20B Efecto del Compuesto en Ratas sobre la Masa Grasa y Magra Después de 14 Noches de Tratamiento



Figuras 21A, B y C Efecto en Ratas del Compuesto sobre Parámetros Metabólicos Después de 14 Días de Tratamiento

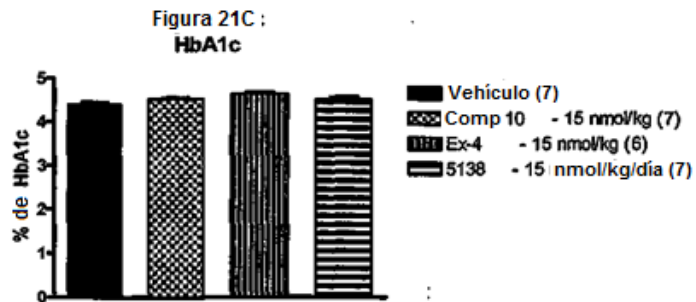
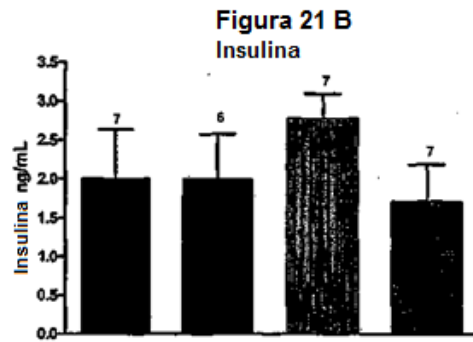
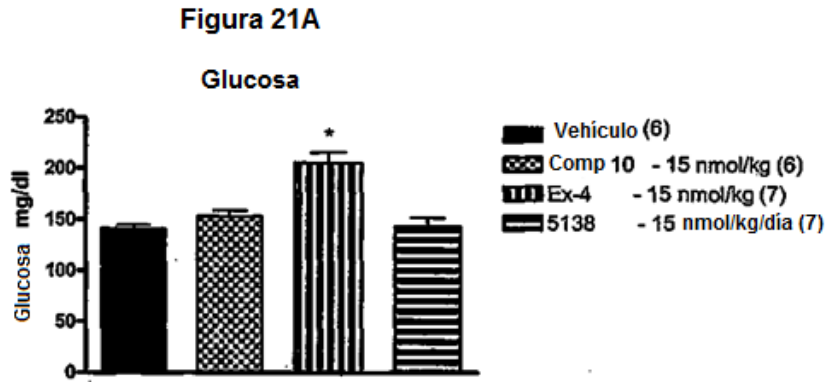
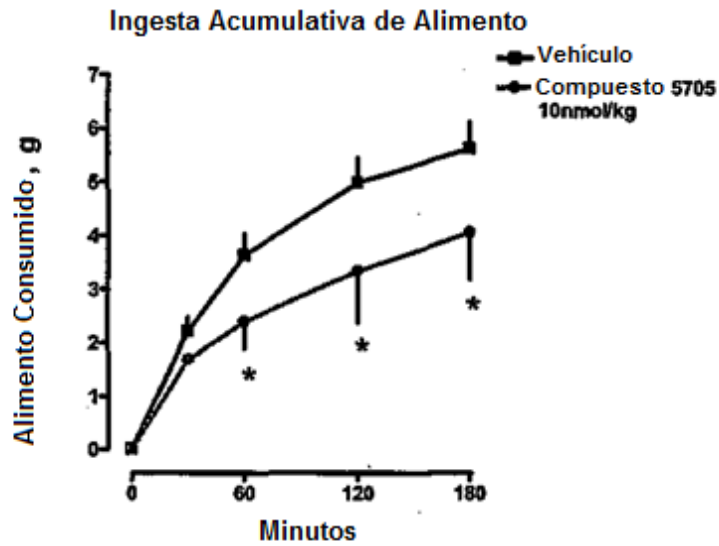


Figura 22: El Compuesto 5705 reduce la Ingesta de Alimento



Los puntos representan la media  $\pm$  dt de n=4 jaulas (3 ratones/jaula). El péptido se inyectó IP a t=0. El alimento se introdujo inmediatamente después de la inyección y a t= 30,60, 120 y 180 min, se midió la cantidad consumida.

\*  $p < 0,05$  frente a control con vehículo; ANOVA; ensayo Dunnett



Figura 23: Los compuestos 4883 y 5705 Disminuyen la Ingesta de Alimento Diaria y el Peso Corporal

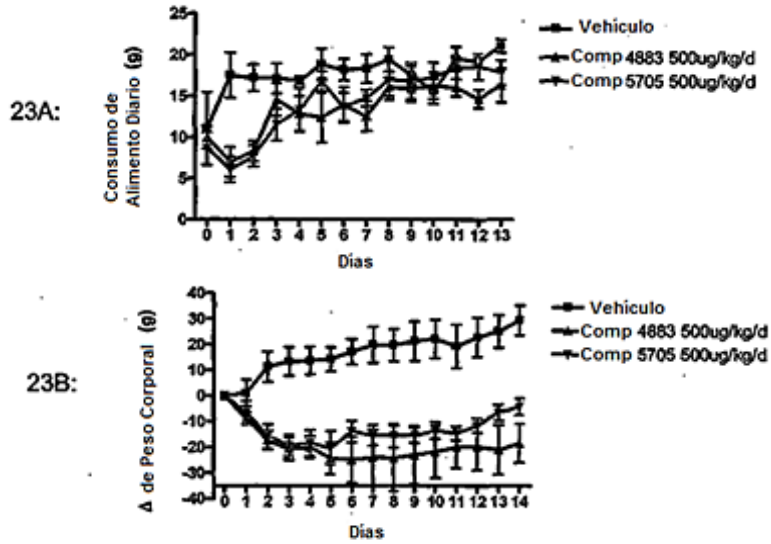


Figura 24: Los compuestos 4883 y 5705 Disminuyen la Ingesta de Alimento Acumulativa y el Peso Corporal

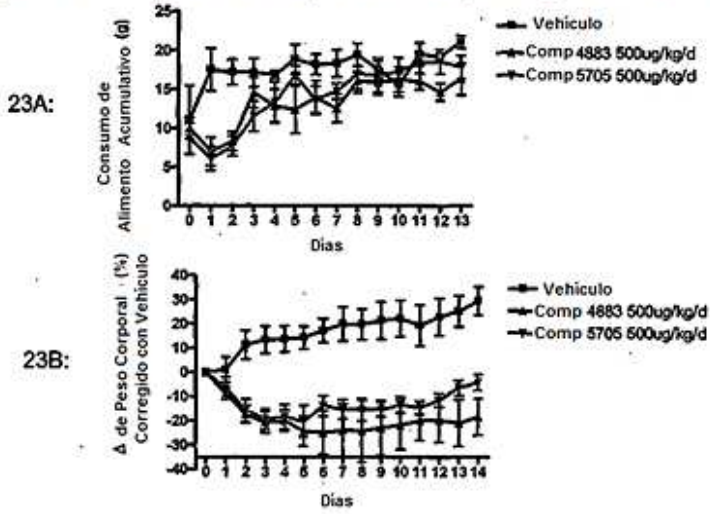


Figura 25: Compuestos 4883 y 5705. Ingesta de Agua Diaria y Producción de Orina

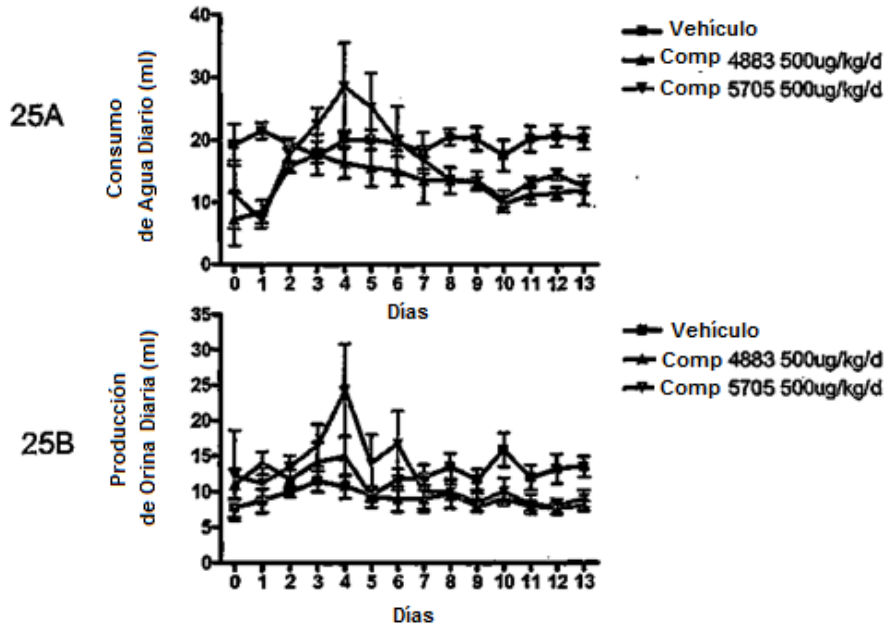
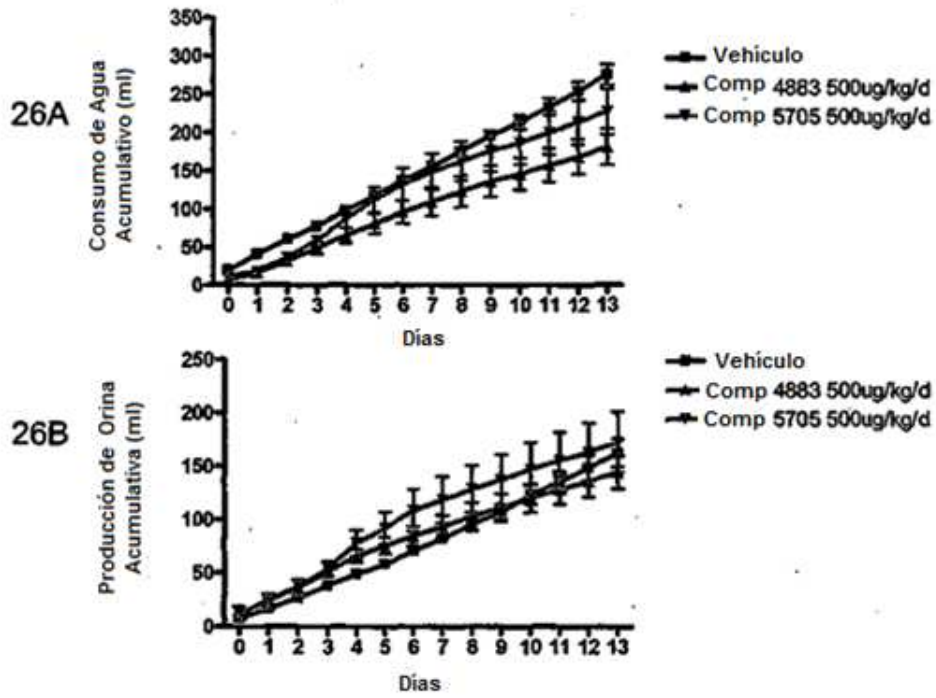
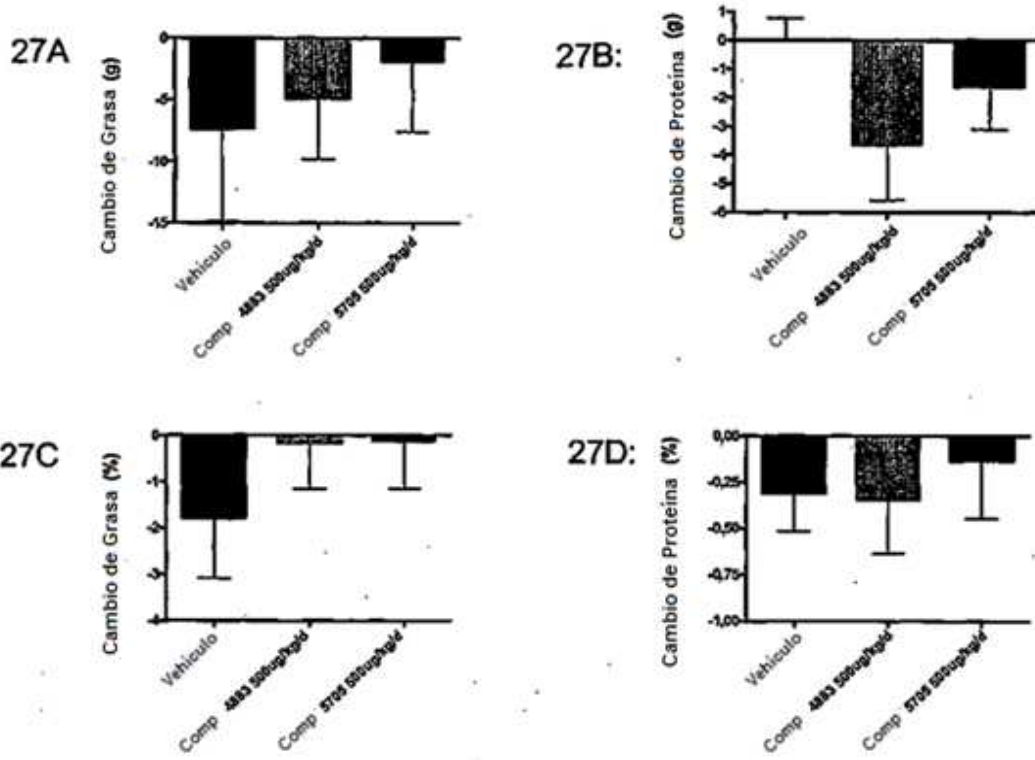


Figura 26: Efecto de los Compuestos 4883 y 5705 sobre la Ingesta de Agua en Comparación con la Producción de Orina Acumulativa



**Figura 27: Efectos de los Compuestos 4883 y 5705 sobre la Composición Corporal (por RMN)**



**Figura 28: Efectos de los compuestos 4883 y 5705 sobre la Composición Corporal. Los Cambios de Agua se Miden en Gramos y en %**

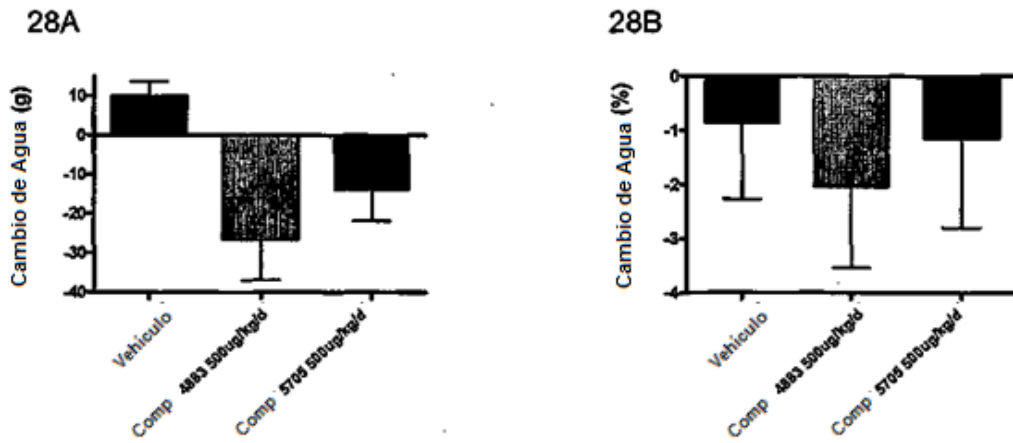


Figura 29 Efectos de los Compuestos 4883 y 5705 sobre los Electrolitos en la Orina Después de 7 y 14 Días de Tratamiento

