

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 582 376**

51 Int. Cl.:

A61P 3/10 (2006.01)

A61K 31/425 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.04.2001 E 10179515 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.05.2016 EP 2266665**

54 Título: **Método para la mejora de la señalización de islotes en diabetes mellitus y para su prevención**

30 Prioridad:

31.03.2000 US 194061 P

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

12.09.2016

73 Titular/es:

**ROYALTY PHARMA COLLECTION TRUST
(100.0%)**

**Rodney Square North, 1100 North Market Street
Wilmington DE 19890, US**

72 Inventor/es:

**DEMUTH, HANS-ULRICH y
GLUND, KONRAD**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 582 376 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

Método para la mejora de la señalización de islotes en diabetes mellitus y para su prevención

5 **Antecedentes**

10 El páncreas comprende dos tejidos glandulares, uno es una colección de células que forman la función exocrina del páncreas cuando estas células exocrinas sintetizan y liberan enzimas digestivas al intestino; el segundo tejido comprende la función endocrina del páncreas que sintetiza y libera hormonas a la circulación. Las células β son de suma importancia en la función endocrina del páncreas. Estas células sintetizan y secretan la hormona insulina. La hormona insulina desempeña un papel vital en el mantenimiento de los niveles glucémicos fisiológicos normales. Hay moléculas que son efectoras de las células endocrinas del páncreas. Las incretinas son un ejemplo de dichas moléculas. Las incretinas potencian la secreción de insulina inducida por glucosa del páncreas.

15 Se ha demostrado que las incretinas tales como el péptido de tipo glucagón 1 (7-36) amida ("GLP-1"; o el análogo de lagarto Exendina 4) y el polipéptido inhibidor gástrico ("GIP") son insulínótropicos, es decir, su presencia o estabilización puede mantener el control glucémico agudo por su efectos secretores de insulina (Demuth, H. U., *et al.*, DE 196 16 486: 1-6, 1996; Pauly, R.P. *et al.*, Regul. Pept. 64 (1-3): 148, 1996, cuyas enseñanzas se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad). Adicionalmente, se ha demostrado que GLP-1 actúa como
20 una hormona del crecimiento de islotes estimulando la proliferación de células β , el aumento de la masa celular y promoviendo las células pancreáticas indiferenciadas en células especializadas del islote de Langerhans. Dichas células muestran secreción mejorada de insulina y glucagón (Yaekura, K. *et al.*, EN: VIP, PACAP, and Related Peptides, W. G. Forssmann y S. I. Said (eds.), Nueva York: New York Academy of Sciences, 1998, p. 445-450; Buteau, J. *et al.*, Diabetologia 42(7): 856-864, 1999, cuyas enseñanzas completas se incorporan en el presente
25 documento por referencia).

30 Se ha propuesto previamente aplicar GLP-1 bioactivo exógeno, o sus análogos, para estimular la regeneración de células de islotes *in vivo*, o para obtener células pancreáticas de pacientes con diabetes mellitus y para tratar dichas células *ex vivo* en cultivo tisular usando GLP-1 bioactivo. Se ha considerado que este tratamiento *ex vivo* facilita la regeneración y/o diferenciación de células de islotes que podrían después sintetizar y secretar insulina o glucagón (Zhou, J. *et al.*, Diabetes, 48(12): 2358-2366, 1999; Xu, G. *et al.*, Diabetes, 48(12): 2270-2276, 1999, cuyas enseñanzas completas se incorporan en el presente documento por referencia).

35 Sin embargo, dicho régimen de tratamiento requiere la aplicación entérica o parenteral de GLP-1 bioactivo a pacientes, incluyendo la posibilidad de cirugía. Un aspecto para evitar la necesidad del tratamiento quirúrgico, son las aplicaciones entéricas o parenterales de GLP-1 bioactivo.

Sumario

40 La presente invención se refiere a un nuevo uso en el que la reducción de la actividad en la enzima dipeptidil peptidasa (DP IV o CD 26) o de la actividad enzimática de tipo DP IV en la sangre de mamíferos inducida por efectoras de la enzima conduce como una consecuencia causal a una degradación reducida del polipéptido gastrointestinal Péptido de tipo Glucagón Amida 1 7-36 (GLP-1₇₋₃₆) (o análogos funcionales estructuralmente
45 relacionados de este péptido, tales como GLP-1₇₋₃₇, o fragmentos truncados pero biológicamente activos de GLP-1₇₋₃₆) por DP IV y enzima de tipo DP IV. Dicho tratamiento dará como resultado una reducción o retardo de la disminución de la concentración de hormonas peptídicas en circulación GLP-1 activas funcionales (incluyendo derivadas de GLP-1) o de sus análogos.

50 Como consecuencia de la estabilidad potenciada resultante de los péptidos en circulación de GLP-1 endógenos (incluyendo derivados de GLP-1) provocada por la inhibición de la actividad de DP IV, la actividad de GLP-1 se prolonga dando como resultado hormonas peptídicas en circulación de GLP-1 funcionalmente activas (incluyendo derivadas de GLP-1) que facilitan la estimulación de tipo hormona del crecimiento de células β pancreáticas de tal modo que estas células proliferan a células funcionalmente activas de los Islotes de Langerhans. Adicionalmente, las células β pancreáticas insensibles o células β pancreáticas alteradas pueden transformarse en células β de los
55 islotes de Langerhans funcionalmente activas cuando se exponen a GLP-1.

60 Se esperaba que la transformación de células pancreáticas insensibles o células β pancreáticas alteradas a células β de los islotes de Langerhans funcionalmente activas diera como resultado una secreción de insulina aumentada y un nivel de insulina aumentado en plasma sanguíneo. Sorprendentemente, en estudios en voluntarios humanos sanos y ratas Zucker diabéticas, obesas, el nivel de insulina se redujo después del tratamiento con el inhibidor de DP IV isoleucil triazolodina hemifumarato (P32/98) (véase ejemplos 1 y 2, respectivamente). No obstante, la regeneración resultante de los islotes de Langerhans cambia la eficacia de la insulina endógena y otras hormonas de islotes, tales como glucagón, de tal manera que se efectúe estimulación del metabolismo de carbohidratos de un mamífero tratado. Como resultado, el nivel de glucosa en sangre cae por debajo de la concentración de glucosa característica
65 de hiperglucemia, como se muestra en los ejemplos 1 y 2. El mecanismo que desencadena estos efectos no se

conoce en detalle. Sin embargo, la regeneración resultante de las células de islotes efectúa además anomalías del metabolismo incluyendo glucosuria, hiperlipidemia así como acidosis metabólicas graves y Diabetes mellitus, evitando o aliviando estas secuelas.

- 5 A diferencia de otros métodos propuestos conocidos en la técnica, tales como trasplante de células o tejidos pancreáticos o tratamiento *ex vivo* de células pancreáticas usando GLP-1 o exendina 4 seguido de reimplantación de las células tratadas, la presente invención no provoca o requiere cirugía complicada y costosa, y proporciona una terapia disponible por vía oral. La presente invención representa un nuevo enfoque para reducir la concentración elevada de glucosa en sangre. Es comercialmente útil y adecuado para su uso en un régimen terapéutico,
 10 especialmente con respecto a enfermedad humana, muchas de las cuales están provocadas por niveles de glucosa en sangre elevados prolongados.

Breve descripción de las figuras

- 15 Puede obtenerse un mayor entendimiento de la presente invención por referencia a las figuras en las que:

La FIGURA 1 es una representación gráfica de la dependencia del tiempo de GLP-1 bioactivo en circulación en seres humanos (n=36) dependiendo de la formulación del inhibidor de DP IV aplicado por vía oral P32/98;

- 20 La FIGURA 2 es una gráfica que representa la dependencia de la AUC de GLP-1 bioactivo en circulación en seres humanos (n=36) en la formulación del inhibidor de DP IV aplicado por vía oral P32/98;

La FIGURA 3 es una representación gráfica que muestra la mejora de la glucosa en sangre por la mañana (MBG) después de la aplicación monoterapéutica subcrónica de 8,7 mg/kg/d de P32/98 a ratas obesas, diabéticas fa/fa;

- 25 La FIGURA 4a es una representación gráfica que muestra el control de glucosa mejorado debido al tratamiento con inhibidor de DP IV después de 16 días de tratamiento en ratas diabéticas obesas;

La FIGURA 4b, es una representación gráfica que muestra la secreción de insulina reducida debido al tratamiento con inhibidor de DP IV después de 16 días de tratamiento en ratas diabéticas obesas;

- 30 La FIGURA 5a es una representación gráfica que muestra los niveles de glucosa en sangre en función del tiempo en el mantenimiento de glucemia mejorada después de 21 días del tratamiento subcrónico de ratas obesas, diabéticas fa/fa por el inhibidor de DP IV formulado p32/98; y

La FIGURA 5b es una representación gráfica que muestra los niveles de insulina en plasma en función del tiempo en el mantenimiento de glucemia mejorada después de 21 días del tratamiento subcrónico de ratas obesas, diabéticas fa/fa por el inhibidor de DP IV formulado p32/98.

35 Descripción detallada

La presente invención se refiere a un inhibidor de la actividad enzimática de dipeptidil peptidasa IV para su uso para facilitar la estimulación de tipo hormona del crecimiento de células pancreáticas a funcionalmente activas de los Islotes de Langerhans para su uso en un método de tratamiento de diabetes mellitus.

- 40 La secreción de insulina inducida por glucosa está modulada por varias hormonas y neurotransmisores. Son de interés específico las dos hormonas intestinales, péptido de tipo glucagón 1 (GLP-1) y péptido inhibidor gástrico (GIP), ambas de las cuales son agentes insulíntrópicos. Los agentes insulíntrópicos pueden estimular, o provocar la estimulación de, la síntesis o expresión de la hormona insulina.

- 45 GLP-1 es un potente agente insulíntrópico intestinal que aumenta la secreción de insulina y reduce en gran medida los niveles de glucosa, incluyendo niveles observados en diabetes de Tipo I y Tipo II. Se forma GLP-1 por escisiones específicas de tejido alternativas en las células L del intestino, las células α del páncreas endocrino y neuronas en el cerebro. El GIP se sintetiza y se libera del duodeno y yeyuno próximo de forma postprandial. Su liberación depende de varios factores incluyendo el contenido del alimento y estado de salud preexistente. Se descubrió inicialmente y se nombró por sus propiedades inhibitorias de ácidos gástricos. Sin embargo, a medida que ha progresado la investigación sobre esta hormona, se han dilucidado más papeles fisiológicos relevantes. Específicamente, el GIP es un agente insulíntrópico con un efecto estimulador en la síntesis y liberación de insulina.

- 55 DP IV es una enzima que es una exopeptidasa que escinde de forma selectiva péptidos después de los penúltimos restos de alanina y prolina N terminal. Los sustratos endógenos para esta enzima incluyen las incretinas, tales como polipéptidos insulíntrópicos dependientes de glucosa, como GIP y GLP-1. En presencia de DP IV, estas hormonas se reducen de forma enzimática a formas inactivas. La forma inactiva de GIP y GLP no puede inducir secreción de insulina, por lo tanto los niveles de glucosa en sangre están elevados, especialmente en el estado hiperglucémico.
 60 Se han asociado niveles de glucosa en sangre elevados con muchas patologías diferentes, incluyendo diabetes mellitus (Tipo 1 y 2) y las secuelas que acompañan a la diabetes mellitus.

- También se ha descubierto que DP IV desempeña un papel en las respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T, por ejemplo, en trasplantes. Se ha demostrado la inhibición de DP IV para prolongar aloinjertos cardiacos.
 65 Adicionalmente, la inhibición de DP IV ha contribuido a la supresión de artritis reumatoide. También se ha atribuido a DP IV un papel en la penetración del VIH en linfocitos T (linfocitos T auxiliares).

Se han desarrollado agentes tales como *N*-(glicil *N'*-sustituido)-2-cianopirrolidinas, *L*-*treo*-isoleucil tiazolidina (P32/98), *L*-*alo*-isoleucil tiazolidina, *L*-*treo*-isoleucil pirrolidina y *L*-*alo*-isoleucil pirrolidina que inhiben la actividad enzimática de DP IV y se describen en los documentos US 6.001.155, WO 99/61431, WO 99/67278, WO 99/67279, DE 198 34 591, WO 97/40832, DE 196 16 486 C2, WO 98/19998, WO 00/07617, WO 99/38501 y WO 99/46272, cuyas enseñanzas se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. El objetivo de estos agentes es inhibir DP IV y, haciéndolo, reducir los niveles de glucosa en sangre tratando de este modo eficazmente la hiperglucemia y enfermedades consiguientes asociadas con los niveles elevados de glucosa en sangre. Los inventores de la presente han descubierto sorprendentemente que dichos agente pueden emplearse provechosamente para un fin terapéutico completamente diferente de los conocidos previamente por los expertos en la materia.

Las enfermedades que demuestran característicamente hiperglucemia incluyen enfermedades tales como Diabetes mellitus, de Tipo I y II. La diabetes puede caracterizarse en general como una producción de hormona insuficiente por las células β pancreáticas. Normalmente, estas células sintetizan y secretan la hormona insulina. En diabetes de Tipo I, esta insuficiencia se debe a la destrucción de las células β por un proceso autoinmunitario. La diabetes de Tipo II se debe principalmente a una combinación de deficiencia de células β y resistencia a la insulina periférica. En el paciente diabético, el número de células β está reducido de modo que no solamente hay una preocupación con respecto a la capacidad de las células β para sintetizar y liberar la insulina fisiológica, sino que también hay una preocupación con respecto a la masa crítica de estas células pancreáticas productoras de insulina. Se sabe que se produce pérdida de células β con la presencia de diabetes. Con la pérdida de estas células productoras de insulina, existe una dificultad en la función endocrina del páncreas para producir, por ejemplo, insulina. Con la pérdida de producción de insulina, pueden agravarse procesos patológicos debidos a hiperglucemia.

GLP-1 actúa como una hormona del crecimiento de islotes estimulando la proliferación de células β , aumento de la masa celular y promoviendo células pancreáticas indiferenciadas en células especializadas del islote de Langerhans. Dichas células pancreáticas expuestas a GLP-1 muestran secreción mejorada de insulina y glucagón (Yaekura, K. *et al.*, EN: VIP, PACAP, and Related Peptides, W. G. Forssmann y S. I. Said (eds.), Nueva York: New York Academy of Sciences, 1998, p. 445-450; Buteau, J. *et al.*, Diabetologia 42(7): 856-864, 1999). Los inventores han descubierto que es deseable aumentar la semivida de GLP-1 para facilitar de este modo la reconstitución de las células β pancreáticas. Los inventores también han descubierto un método por el que el catabolismo de GLP-1 puede atenuarse para mejorar la reconstitución de las células pancreáticas.

El uso de la presente invención para tratar la diabetes mellitus en un mamífero, incluyendo pero sin limitación seres humanos, comprende potenciar la presencia de GLP-1 inhibiendo DP IV, o actividades enzimáticas relacionadas, usando un inhibidor de la enzima. La administración oral de un inhibidor de DP IV puede ser preferible en la mayoría de las circunstancias. Sin embargo, se prevén otras vías de administración en la presente invención. Inhibiendo la actividad enzimática de DP IV, la semivida de la forma activa de GLP-1 se extenderá de forma apreciable y se mantendrá en condiciones fisiológicas. La presencia extendida de GLP-1 activo, en particular en el tejido pancreático, facilitará la diferenciación de células epiteliales pancreáticas en células efectoras pancreáticas, como células β productoras de insulina. También se muestra que la prolongación de la presencia fisiológicamente activa de GLP-1 en tejido pancreático facilitará la regeneración de las células β que ya están presentes pero que necesitan reparación. Sorprendentemente, este efecto solamente es observable después de dosificaciones repetidas (véase ejemplo 2). Ya que después de la retirada de la medicación, se restaura el estado metabólico antes de tratamiento, es necesaria dosificación subcrónica o crónica del efector de DP IV para mantener la glucemia mejorada conseguida. Estas células productoras de insulina reparadas pueden después contribuir eficazmente a la corrección y mantenimiento de niveles glucémicos fisiológicos normales.

En la presente invención se sintetiza GLP-1 endógeno y se libera en las vías fisiológicas normales. La ingesta de una comida puede estimular la liberación de GLP-1. Como alternativa, puede proporcionarse glucosa o su análogo por vía oral en forma de un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una "píldora de azúcar") para estimular la liberación de GLP-1 endógeno. Dicha glucosa puede tomarse antes, simultáneamente o después de la administración de los inhibidores de DP IV.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente (o profilácticamente) eficaz del inhibidor (y/o una píldora de azúcar para acompañar a la administración de un inhibidor de DP IV), y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. El vehículo y composición se producen en condiciones de buenas prácticas de laboratorio y son estériles. La formulación se selecciona idealmente para ajustarse al modo de administración, de acuerdo con la práctica convencional.

Los vehículos adecuados farmacéuticamente aceptables incluyen pero sin limitación agua, soluciones salinas (por ejemplo, NaCl), alcoholes, gomas arábicas, aceites vegetales, alcoholes bencílicos, polietilenglicoles, gelatina, carbohidratos tales como lactosa, amilosa o almidón, estearato de magnesio, talco, parafina viscosa, aceite perfumado, ésteres de ácidos grasos, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, etc. Las preparaciones farmacéuticas pueden esterilizarse y si se desea mezclarse con agentes adyuvantes, por ejemplo, lubricantes, conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones,

sustancias colorantes, saporíferas y/o aromáticas y similares que no reaccionan de forma deletérea con los compuestos activos, pero que mejoran la estabilidad, capacidad de fabricación y/o atractivo estético.

Las composiciones, si se desea, también pueden contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponantes de pH. Además, la composición puede ser una solución líquida, suspensión, emulsión, comprimido, píldora, cápsula, formulación de liberación sostenida o polvo. Además, la composición puede formularse como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales tales como triglicéridos. Las formulaciones orales pueden incluir vehículos convencionales tales como usos farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, polivinil pirrolidona, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc.

Además, las composiciones pueden formularse de acuerdo con métodos que se conocen bien en la técnica de la composición farmacéutica adaptados para administración intravenosa a seres humanos. Típicamente, las composiciones para administración intravenosa son solución tamponada acuosa isotónica estéril. Cuando sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local para reducir el dolor en el sitio de inyección. En general, los ingredientes se proporcionan por separado o se mezclan entre sí en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado sin agua en un recipiente sellado de forma hermética tal como una ampolla o sobrecito que indica la cantidad del compuesto activo. Cuando la composición va a administrarse por infusión, puede dosificarse con un frasco de infusión que contiene agua de uso farmacéutico estéril, solución salina o dextrosa/agua. Cuando la composición se administra por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de modo que los ingredientes pueden mezclarse justo antes de la administración.

Finalmente, las composiciones de la invención pueden formularse como formas neutras o salinas. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas con grupos amino libres tales como los derivados de ácido clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., y los derivados de sodio, potasio, amonio, calcio, hidróxidos férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína y otras formas salinas que se conocen bien en la técnica.

La cantidad de la composición de la invención que será eficaz en el tratamiento de un trastorno o afección particular dependerá de la naturaleza del trastorno o afección, y puede determinarse por técnicas clínicas convencionales.

Además, pueden emplearse opcionalmente ensayos *in vitro* y/o *in vivo* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa para emplear en la formulación también dependerá de la vía de administración, y la gravedad de la enfermedad o trastorno. La dosis debería decidirse de acuerdo con el criterio del facultativo teniendo en consideración las circunstancias de cada paciente.

Se entenderá fácilmente por el experto en la materia que pueden realizarse numerosas alteraciones a los ejemplos e instrucciones proporcionados en el presente documento incluyendo la generación de diferentes inhibidores de DP IV y composiciones terapéuticas alternativas sin alejarse del espíritu o alcance de la presente invención. No se pretende que los siguientes ejemplos como se describen se interpreten como limitantes del alcance de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

El inhibidor de DP IV P32/98 se transporta de forma activa por el transportador peptídico intestinal PepT1. El transporte rápido y activo de P32/98 a través de la mucosa intestinal es responsable de su aparición rápida. La $t_{m\acute{a}x}$ es un prerrequisito para la dirección eficaz de dipeptidilpeptidasa IV (DP IV). La administración oral de P32/98 da como resultado una inhibición diana máxima de 15 a 20 minutos y 30 a 40 minutos después de la ingestión en ratas y hombres, respectivamente. Por lo tanto, debería proporcionarse inhibidor de DP IV 10-20 minutos antes del consumo de glucosa o alimentos.

En el primer estudio humano con P32/98, se investigaron parámetros farmacodinámicos como concentración de insulina y concentración de GLP-1 en el plasma y la glucosa en sangre en 36 voluntarios masculinos sanos. La dosificación oral de P32/98 fue en las siguientes concentraciones: 7,5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 120 mg y 240 mg. Los resultados de los parámetros farmacodinámicos anteriores se resumen posteriormente en la Tabla 1.

Los 36 sujetos masculinos sanos se dividieron en 3 grupos individuales conteniendo cada grupo 12 sujetos. En cada grupo individual 9 sujetos recibieron el fármaco activo P32/98 y 3 recibieron placebo. Los sujetos que recibieron el fármaco activo se dosificaron dos veces, en diferentes periodos y a diferentes concentraciones. Las concentraciones del P32/98 recibidas dentro de los grupos fueron las siguientes: el grupo I recibió 7,5 mg y 60 mg; el grupo II recibió 15 mg y 120 mg; y el grupo III recibió 30 mg y 240 mg. Se proporcionó placebo a los sujetos de todos los grupos que recibieron placebo a ambos intervalos de dosificación.

Se realizó un examen de los sujetos preestudio en un intervalo de 3-14 días antes de su participación en el estudio. Una segunda parte del estudio comprendía una fase experimental e implicó seis tratamientos de dosis individuales de concentraciones crecientes de P32/98 (periodos 1 a 6; Tabla 2) que concluyeron con un examen de seguimiento.

Cada sujeto participó en el preestudio y la fase experimental, que se separaron por una fase de lavado de al menos 5 días. Se realizó el examen de seguimiento al menos 7 días después de la última dosis de fármaco del estudio. Los procedimientos del estudio de los seis periodos fueron idénticos excepto por la dosis que se investigaba.

5 Métodos

Ensayos de tolerancia a glucosa oral ("OGTT"): se requería que los sujetos estuvieran en un estado de ayunas durante al menos 12 horas y cumplieran con una dieta rica en carbohidratos 3 días antes de cada OGTT. En cada ensayo de tolerancia a la glucosa, los sujetos ingirieron 300 ml de solución de mono/disacáridos equivalentes a 75 g de glucosa (Dextro®O,G,-T, Boehringer Mannheim, FRG). Se tomaron muestras de sangre (1,2 ml en tubos de fluoruro sódico) inmediatamente antes del consumo de glucosa y a los 30, 60, 90 y 120 minutos a continuación. Se consideró que cualquier concentración de glucosa por encima de 126 mg/dl (7,0 mmoles/l) a 0 minutos y 120 minutos estaba en un estado de tolerancia a la glucosa patológico.

15 Se realizó un OGTT extendido el Día 1 de cada periodo de dosificación. Los sujetos ingirieron 300 ml de una solución de mono/disacáridos equivalente a 75 g de glucosa. Se tomaron muestras de sangre (1,2 ml) en los siguientes intervalos: 1) 5 minutos antes del consumo de glucosa; 2) a los 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 y 180 minutos después del consumo de glucosa; 3) 4, 12 y 24 y 48 horas después del consumo de glucosa.

20 Adicionalmente se realizaron otras evaluaciones farmacodinámicas que se conocen bien en la técnica.

Insulina: se recogieron 4,7 ml de sangre en tubos de EDTA de 4,9 ml. Las muestras se centrifugaron (1500 g, 10 min) y se almacenaron congeladas a -70 °C hasta su análisis de laboratorio.

25 Glucosa: se recogieron 1,2 ml de sangre en tubos de fluoruro sódico de 1,2 ml. Se centrifugaron las muestras de plasma a 1500 g durante 10 minutos y se almacenaron congeladas a -70 °C hasta su análisis de laboratorio.

30 GLP-1: se recogieron 2,7 ml de sangre en tubos de EDTA y se colocaron en hielo o refrigerados, a los que se añadió un inhibidor de dipeptidil peptidasa IV. El inhibidor se preparó previamente por los investigadores. Se recogió sangre en tubos y se centrifugó inmediatamente a 1000 g durante 10 minutos en centrifuga refrigerada o la sangre se colocó en hielo y se centrifugó en un intervalo de 1 hora y se separó en alícuotas en muestras iguales. La sangre se almacenó en alícuotas apropiadas a -70 °C (para evitar múltiples ciclos de congelación/descongelación) hasta su análisis de laboratorio.

35 Resultados

Concentraciones de GLP-1 activo Se descubrió un efecto dependiente de la dosis de P32/98 en comparación con el placebo. Las concentraciones individuales generales variaron entre 2-68 pmol/l. Las medias de grupo predosis fueron entre $3,77 \pm 2,62$ pmol/l y $6,67 \pm 9,43$ pmol/l y aumentaron en hasta 4,22 y 7,66 pmol/l después del uso de un placebo, pero en 11,6 pmol/l (15 mg) y 15,99 pmol/l (240 mg P32/98) después del uso del inhibidor. Si el aumento medio relativo se estima a partir de las concentraciones absolutas, las concentraciones de GLP-1 activo aumentaron en aproximadamente 200-300 % después de tratamiento con placebo, pero en aproximadamente 300-400 % después de tratamiento con P32/98. El aumento absoluto en las medianas después de 15-240 mg de P32/98 fue 2-3 veces mayor en comparación con el placebo y la dosis de 7,5 mg (véase Tabla 1) que indicó aproximadamente una relación de respuesta a dosis. Estaba presente un aumento por encima de los valores predosis hasta aproximadamente 3-4 horas en relación con la dosis de P32/98.

50 Las concentraciones de insulina mostraron un intervalo individual general de valores entre 3,40 y 155,1 μ UI/ml. Las concentraciones predosis medias (\pm DT) variaron entre $7,96 \pm 1,92$ μ UI/ml (30 mg) y $11,93 \pm 2,91$ μ UI/ml (60 mg P32/98). Después de la ingesta de 75 g de glucosa a 10 minutos después de la dosis de P32/98/placebo, las concentraciones de insulina media aumentaron en 30,12 μ UI/ml (120 mg de P32/98) hasta 56,92 μ UI/ml (30 mg de grupo) en un intervalo de 40-55 minutos. No hubo diferencias aparentes entre los grupos de dosificación de placebo y de P32/98 y, de nuevo, no hubo pruebas de un efecto dependiente de la dosis de P32/98. Resulta interesante que el aumento absoluto de la concentración de insulina era menor en los dos grupos de dosificación de P32/98 mayores (véase Tabla 1). Las concentraciones de insulina fueron elevadas durante 3-4 horas en todos los grupos de estudio incluyendo placebo.

60 Las concentraciones de glucosa mostraron un intervalo general entre 2,47 y 11,7 mmoles/l en el estado en ayunas, durante el OGGT o después de las comidas entre todos los sujetos del estudio. Las concentraciones predosis medias entre $4,55 \pm 0,41$ (15 mg) y $4,83 \pm 0,30$ mmoles/l (7,5 mg de P32/98) coincidieron estrechamente entre sí y mostraron poca variación. Se alcanzaron concentraciones máximas medias en un intervalo de 40-55 minutos después de la dosis, es decir en un intervalo de 30-45 minutos después de la dosis de glucosa de 75 g. Las concentraciones medias absolutas fueron mayores en los dos grupos de dosificación de placebo y 7,5 mg de P32/98. Las medias absolutas menores se obtuvieron de los grupos con dosificación de 15 mg, 60 mg y d-240 mg. 65 Los cambios medios correspondientes variaron entre 3,44 y 4,21 mmoles/l y 1,71 y 3,41 mmoles/l, respectivamente,

y coincidieron estrechamente con las medianas proporcionadas en la Tabla 1. Aunque no se observó una dependencia de dosis perfecta, estos resultados indican un menor aumento de las concentraciones de glucosa con dosis crecientes de 15-240 mg de P32/98 en comparación con el placebo.

5

Tabla 1: cambios máximos en los parámetros farmacodinámicos (0-12 h, medianas)

	Placebo (1-3)	7,5 mg P32/98	15 mg P32/98	30 mg P32/98	Placebo (4-6)	60 mg P32/98	120 mg P32/98	240 mg P32/98
GLP-1, activo [pmol/l]	3,90 0:25 h	4,10 1:10 h	10,00 0:25 h	10,60 0:40 h	5,30 0:40	12,20 0:25 h	11,10 0:25 h	14,50 0:25 h
Insulina [μU/ml]	46,29 0:55 h	41,86 0:55 h	29,67 0:55 h	59,84 0:40 h	42,90 0:40 h	43,35 0:40 h	28,63 0:40 h	33,36 0:40 h
Glucosa [mmol/l]	3,43 0:55 h	4,66 0:55 h	2,43 0:55 h	3,38 0:40 h	5,33 0:55 h	2,92 0:40 h	2,39 0:40 h	1,73 0:40 h

Tabla 2: C_{máx} corregida y AUC de las concentraciones de glucosa 0-3 h después de OGTT

	AUC _{0→180 min} (mmol*min/l)			C _{máx} [mmol]		
	Media ± DT	Estimación ¹	IC 95 %	Media ± DT	Estimación	IC 95 %
Periodos 1-3						
Placebo	223,9 ± 143,3			4,16 ± 1,10		
7,5 mg P32/98	299,7 ± 111,4	75,8	-48,1 - 199,7	4,94 ± 1,58	0,78	-0,40-1,96
15 mg P32/98	130,9 ± 125,2	-93,0	-216,9-30,9	2,92 ± 1,10	-1,24*	-2,43--0,06
30 mg P32/98	116,1 ± 134,0	-107,7	-231,6-16,2	3,26 ± 1,07	-0,90	-2,08-0,28
Periodos 4-6						
Placebo	252,9 ± 103,3			4,91 ± 1,14		
60 mg P32/98	151,8 ± 99,2	-101,1	-204,8-2,6	3,50 ± 1,66	1,41*	-2,66--0,17
120 mg P32/98	126,7 ± 147,3	-126-1*	-229,8 --22,4	3,09 ± 1,47	-1,82**	-3,07--0,58
240 mg P32/98	24,7 ± 66,6	-228,2***	-331,8--124-5	1,99 ± 0,69	-2,92***	-4,16--1,68

¹ Resultados de la comparación de ANOVA frente a placebo

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

10 Las concentraciones de glucosa máximas medias corregidas con respecto a la línea basal (C_{máx}) superaron 4,0 mmoles/l en los dos grupos de dosificación de placebo y 7,5 mg de P32/98 solamente. Estos valores también fueron por debajo de 3,0 mmoles/l en los grupos de tratamiento de 15 mg y 240 mg de P32/98. La diferencia en comparación con el tratamiento de placebo fue estadísticamente significativa para los grupos de dosificación de 15 mg, 60 mg, 120 mg y 240 mg de P32/98, pero no para los grupos de dosis de 7,5 mg y 30 mg. Los valores de AUC con corrección de línea basal media fueron >200 mmoles*minutos/l después de placebo y 7,5 mg de P32/98, pero
15 claramente por debajo de 200 mmoles/min/l después de las dosis de 15 mg y 240 mg de P32/98. La reducción de la exposición a glucosa sistémica del OGTT fue estadísticamente significativa para los grupos de dosificación de 15 mg, 60 mg, 120 mg y 240 mg de P32/98, pero no para los grupos de dosis de 7,5 mg y 30 mg (véase Tabla 2). La evaluación de los valores corregidos con respecto a línea basal fue muy similar a los obtenidos a partir de datos no corregidos. Por lo tanto, los datos indicaron una exposición a glucosa claramente menor después del OGTT en
20 sujetos sanos tratados con P32/98, lo que era una indicación aproximada, pero no perfecta, dependiente de dosis.

Conclusiones

Los resultados de este estudio permiten las siguientes conclusiones farmacodinámicas:

25

El GLP-1 activo aumentó en aproximadamente 300-400 % después del tratamiento con P32/98 10 minutos antes del OGTT, pero no se vio ningún efecto discernible a partir del tratamiento con placebo para el nivel de dosis de 7,5 mg (véase figuras 1 y 2). Las concentraciones de insulina parecían reducirse a dosis de 120-240 mg después de la estimulación con 75 g de glucosa. Durante el OGTT en sujetos sanos, las concentraciones de glucosa mostraron un aumento significativamente menor después del tratamiento con P32/98 (15-240 mg) en comparación con el placebo, que se relacionaba con la dosis de P32/98.

30

Ejemplo 2

35

En la rata Zucker obesa, P32/98 dependiente de nutriente apoya la secreción de insulina inicial. Sin embargo, durante un tratamiento subcrónico, P32/98 reduce la secreción de insulina diaria total. En comparación con una glibenclamida de control, que aumenta la producción de insulina en 27 %, P32/98 provoca una economización de la insulina ahorrando el 45 % en comparación con el control.

40

Se realizaron ensayos para determinar si P32/98 es un buen candidato para influir en la tolerancia a la glucosa *in*

vivo aumentando las semividas en circulación de las incretinas GIP y GLP-1.

Se llevaron a cabo estudios comparativos con glibenclamida (Maninil® Berlin-Chemie, Berlín, Alemania) como sustancia de referencia. La glibenclamida es uno de los fármacos más eficaces para reducir la glucosa en sangre en
5 pacientes diabéticos de Tipo 2 y una de las sulfonilureas más frecuentemente recetadas.

Se investigaron ratas Zucker fa/fa macho, que muestran anomalías en el metabolismo de la glucosa y son un modelo animal bien establecido para la diabetes de Tipo 2, de la siguiente manera:

10 Se proporcionó P32/98 y glibenclamida una vez al día antes del consumo de alimentos durante un periodo de 21 días. Los parámetros controlados fueron la glucosa en sangre por la mañana y los niveles de insulina en plasma. En un perfil de día-noche, se controlaron la glucemia e insulinemia desde el día 16 al día 17. Se realizó un OGTT finalmente el día 21 para controlar la glucosa en sangre y la cinética de insulina en plasma para evaluar cambios en la tolerancia a la glucosa. Se donó glibenclamida (DAB 1996; R011150/33372) por Berlin-Chemie (Berlín, Alemania).
15 Se obtuvieron ratas Zucker (fa/fa) macho de la clase de peso corporal de 300 g de Charles River (Sulzfeld, Alemania).

Métodos

20 Condiciones de alojamiento: los animales se mantuvieron en alojamiento individual en condiciones convencionales con temperatura controlada (22 ± 2 °C) en un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas (luz encendida a las 06:00 a.m.). Se permitieron microgránulos convencionales (ssniff®, Soest, Alemania) y agua del grifo acidificada con HCl a voluntad.

25 Instalación de catéter de la arteria carótida: después de una semana de adaptación se implantaron catéteres carótidos en las ratas con anestesia general (inyección de 0,25 ml/kg i.p. de Rompun® [2 %], Bayer, Alemania) y 0,5 ml/kg i.p. Velonarkon® (Arzneimittelwerk Dresden, Alemania). Se permitió que los animales se recuperaran durante una semana. El catéter se lavó abundantemente con heparina-solución salina (100 UI/ml) tres veces por semana.

30 Dosificación repetida: se asignaron aleatoriamente 30 ratas Wistar no diabéticas macho y 30 Zucker diabéticas macho a los grupos de RP (Producto de Referencia: glibenclamida), TP (Producto de Ensayo: P32/98) y CO (Control) (N=10 por grupo). A continuación, las ratas Wistar no diabéticas se trataron por vía oral una vez al día con RP (5 mg/kg p.c.) o TP (21,61 mg/kg p.c.) y las ratas Zucker diabéticas se trataron por vía oral una vez al día con RP (1 mg/kg p.c.) o TP (21,61 mg/kg p.c.) durante 21 días a las 05.00 p.m. (antes del consumo de alimento regular en la fase oscura. Se proporcionó a los controles solución de celulosa 1 % por vía oral (5 ml/kg). Se tomaron muestras de sangre cada mañana a las 7.30 a.m. de las venas de la cola para medición de la glucosa en sangre e insulina en plasma. Las últimas muestras de sangre de esta parte del programa se tomaron a las 07.30 a.m. el 15º día para medir la glucosa en sangre e insulina en plasma. La terapia farmacológica oral se continuó durante una semana. Registrando el perfil de día-noche bajo la terapia anterior se controlaron la glucosa en sangre ($\Delta t = 3$ h) e insulina en plasma ($\Delta t = 3-6$ h) desde el día 16 (comienzo a las 05.00 p.m.) hasta el día 17 (fin a las 02.00 p.m.).
35
40

OGTT: se realizó un OGTT final el día 21 con muestras de sangre de la vena de la cola. Las muestras de sangre de la vena de la cola se tomaron a las -12 h (la noche antes del día 21), a los 0 minutos (inmediatamente antes del comienzo de OGTT), a los 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 y 120 min. Se tomaron muestras de sangre en capilares de vidrio de 20 µl para mediciones de glucosa en sangre y en tubos Eppendorf (100 µl). Estos últimos se centrifugaron inmediatamente y las fracciones en plasma se almacenaron a -20 °C para análisis de insulina.
45

Glucosa en sangre: los niveles de glucosa se midieron usando el procedimiento de glucosa oxidasa (Super G Glukose-meligerát; Dr. MüllerGerätebau, Freital, Alemania).
50

Insulina en plasma: las concentraciones de insulina se ensayaron por el método de RIA de anticuerpos (LINCO Research, Inc. St. Charles, Mo., Estados Unidos).
55

Resultados

Perfil de día-noche de glucemia (véase figura 4 A): la concentración de glucosa en sangre media en el grupo de CO el día 16 fue de $7,78 \pm 0,83$ mmoles/l antes de la aplicación del fármaco a las 05.00 p.m. Después de la ingesta de placebo oral y el consumo de alimentos en la fase oscura la glucemia aumentó a valores máximos de $12,18 \pm 1,34$ mmoles/l a las 11.00 p.m. A continuación la glucemia se redujo muy lentamente hasta los valores menores de $7,27 \pm 0,61$ mmoles/l a las 11. a.m., seguido de un aumento de $8,90 \pm 0,92$ mmoles/l a las 02.00 p.m. al día siguiente. En el grupo de RP, se vio una imagen similar de la glucemia. Sin embargo, a partir de un valor medio comparable de $7,96 \pm 1,13$ mmoles/l a las 05.00 p.m. con respecto a los animales de control hubo un aumento más fuerte hasta $14,80 \pm 1,46$ mmoles/l (11.00 p.m.) y a continuación una reducción a $7,66 \pm 1,22$ mmoles/l (11.00 a.m.) y una reducción ligera adicional a $7,34 \pm 0,77$ mmoles/l a las 02.00 p.m. del día siguiente, respectivamente. En el grupo de TP las ratas Zucker tuvieron un valor de glucosa en sangre medio normal de $5,25 \pm 0,16$ mmoles/l a las 05.00 p.m. y los
60
65

valores individuales estuvieron en el intervalo de 4,34 a 6,07 mmoles/l. La glucemia mostró un aumento de aproximadamente 3 mmoles/l a $8,34 \pm 0,47$ mmoles/l a las 11.00 p.m. Esto se siguió de una reducción permanente hasta valores basales que se alcanzaron a las 08.00 a.m. ($5,64 \pm 0,23$) y que se mantuvieron a las 11.00 a.m. ($5,33 \pm 0,14$ mmoles/l) y 02.00 p.m. al día siguiente ($5,51 \pm 0,19$ mmoles/l), respectivamente.

5 Perfil de día-noche de insulinemia (véase figura 4 B): las ratas Zucker CO y RP eran fuertemente hiperinsulinémicas. La insulina mostró una variabilidad en sus valores medios a las 05.00 p.m. en el grupo de CO ($47,0 \pm 8,7$ ng/ml), 08.00 p.m. ($45,5 \pm 7,7$ ng/ml), 05.00 a.m. ($54,2 \pm 5,7$ ng/ml) y 02.00 p.m. al día siguiente ($61,0 \pm 10,2$ ng/ml; NS) que no mostró ninguna relación con las excursiones de glucosa en sangre. En el grupo de RP en la fase oscura de 06.00 p.m. a las 06.00 a.m. hubo un aumento significativo en los valores de insulina en plasma con un máximo a las 5.00 a.m. Este parámetro aumentó de los valores fuertemente hiperinsulinémicos de $50,0 \pm 8,2$ ng/ml (05.00 p.m.) pasando por $57,3 \pm 8,2$ ng/ml (08.00 p.m.) hasta $76,3 \pm 8,6$ ng/ml (05.00 a.m.; $p < 0,01$ frente a su valor inicial), que se siguió de una reducción hasta $58,3 \pm 7,3$ ng/ml (02.00 p.m. al día siguiente). En este grupo de RP la insulina se desplazó de fase fuertemente en relación con las excursiones de glucosa en sangre. En el grupo de TP, las ratas Zucker también eran hiperinsulinémicas. La insulina en plasma a las 05.00 p.m. era significativamente menor que en el RP ($p < 0,05$ frente a RP). Paralelo a los aumentos de glucosa en sangre (Figura IV/3 A) hubo un aumento de la insulina en plasma a las 08.00 p.m. ($41,9 \pm 8,5$ ng/ml). El valor de insulina máximo se midió a las 05.00 a.m. ($57,1 \pm 8,6$ ng/ml; $p < 0,01$ frente a los valores iniciales). La concentración de insulina en plasma se redujo alcanzando la concentración basal ($24,3 \pm 3,7$ ng/ml) a aproximadamente las 2.00 p.m. al día siguiente que era significativamente menor que en los grupos de CO o RP ($p < 0,01$ frente a CO o TP).

25 OGTT después de 21 días de tratamiento, curvas de glucosa en sangre (Véase Figura 5 A): la última aplicación farmacológica a las 05.00 p.m. y ayunas durante una noche el día 21 se siguieron de una reducción significativa en la glucemia en el grupo de CO de $8,68 \pm 1,26$ mmoles/l (05.00 p.m.) hasta $5,08 \pm 0,24$ mmoles/l ($p < 0,05$), en el grupo de RP de $8,81 \pm 1,21$ mmoles/l a $4,91 \pm 0,37$ mmoles/l ($p < 0,01$) y el grupo de TP de $5,75 \pm 0,23$ mmoles/l a $4,88 \pm 0,13$ mmoles/l ($p < 0,01$). Por esta razón se realizaron cargas de glucosa oral desde un nivel de concentración de glucosa basal comparable en los tres grupos experimentales hallados por la mañana (07.30 a. m.).

30 En el grupo de CO la glucemia aumentó después de la aplicación de glucosa oral hasta valores máximos de $14,64 \pm 1,42$ mmoles/l en un periodo de 40 minutos. Posteriormente hubo una reducción ligera, significativa hasta $9,75 \pm 0,46$ mmoles/l al final del ensayo (120 minutos). En el grupo de RP, hubo un aumento abrupto a valores de glucosa en sangre mayores de $16,33 \pm 0,98$ y $16,24 \pm 1,09$ mmoles/l a 50 minutos y 80 minutos, respectivamente. Las concentraciones de glucosa altas se mantuvieron hasta el final del estudio a los 120 minutos (100 minutos: $15,13 \pm 0,76$ mmoles/l, 120 minutos: $14,81 \pm 0,66$ mmoles/l; NS desde los valores máximos anteriores). En el grupo de TP, se encontraron propiedades similares de la curva de glucosa en sangre media al grupo de CO. La glucemia aumentó hasta $14,54 \pm 0,65$ mmoles/l a los 50 minutos y se redujo significativamente a un valor de $10,67 \pm 0,62$ mmoles/l (120 minutos; NS desde CO).

40 El área bajo la curva de la glucosa (G-AUC_{0-120 minutos}) en los grupos de CO y TP fueron de 823 ± 41 y 895 ± 50 mmoles-minuto/l, respectivamente (NS). En el grupo de RP este parámetro se determinó como 1096 ± 76 mmoles-minuto/l y ese valor fue significativamente mayor que en los grupos de CO ($p < 0,01$) o TP ($p < 0,05$).

45 OGTT después de tratamiento de 21 días, insulina en plasma (Véase Figura 5 B): el ayuno de una noche en las ratas Zucker condujo a concentraciones de insulina en plasma reducidas en los animales de CO ($14,6 \pm 3,7$ ng/ml), en el grupo de RP a $11,8 \pm 1,5$ ng/ml y el grupo de TP a $9,3 \pm 1,5$ ng/ml, respectivamente. Las diferencias entre los grupos experimentales no fueron significativas. Después de un estímulo de glucosa, la insulina en plasma permaneció principalmente sin cambios en los grupos de CO, RP y TP. Se encontraron valores ligeramente mayores a los 120 minutos solamente en el grupo de CO, sumando hasta $21,3 \pm 3,0$ ng/ml, que era significativamente mayor que en el grupo de TP ($p < 0,05$).

50 La I-AUC_{0-120 minutos} era generalmente baja. En el grupo de TP este parámetro fue menor que en los grupos de CO o RP (NS).

Sumario

55 Glucosa en sangre por la mañana: los controles tratados con placebo eran hiperglucémicos (aproximadamente 7,5 mmoles/l). La concentración media no tuvo cambios durante el estudio. La terapia de RP aumentó la glucosa en sangre en aproximadamente 1,5 mmoles/l en un intervalo de dos días. La glucemia permaneció en el intervalo más alto. La medicación de TP redujo la glucosa en sangre a un valor normal en un periodo de 5 días. La glucosa en sangre permaneció en el intervalo normal hasta el final del estudio.

60 Insulina en plasma: las ratas Zucker de control eran hiperinsulinémicas y mostraron algo de aumento de insulina adicional durante los 14 días de observación. Las ratas Zucker tratadas con RP mostraron un aumento de insulina hasta concentraciones significativamente mayores que en los animales de control. La aplicación de TP redujo

ligeramente la concentración de insulina durante 14 días en comparación con los animales de control.

5 OGTT después de 21 días de tratamiento, glucosa en sangre: el ayuno de una noche redujo la glucosa en sangre a valores normales en los grupos experimentales. Los animales tratados con placebo mostraron aproximadamente un aumento de glucosa en sangre de 9 mmoles/l en un periodo de 40 minutos después de la carga de glucosa y una ligera reducción a continuación. Las ratas Zucker tratadas con RP mostraron un aumento de glucosa en sangre de aproximadamente 11 mmoles/l después de la carga de glucosa sin reducción durante el ensayo. La curva de glucosa en sangre media de los animales tratados con TP no fue diferente de la de los controles. El tratamiento con RP aumentó la G-AUC, la medicación de TP no aumentó G-AUC en comparación con la aplicación de placebo.

10 OGTT después de 21 días de tratamiento, insulina en plasma: las ratas Zucker de control tuvieron la insulina en ayunas mayor de los tres grupos experimentales de aproximadamente 15 ng/ml. Después de la carga de glucosa, la insulina aumentó significativamente solo al final del ensayo (120 minutos). Las ratas tratadas con RP tuvieron una insulina en ayunas algo menor de ~12,5 ng/ml al comienzo del OGTT y un aumento más temprano a los 40 minutos sin reducción al final del ensayo. Las ratas tratadas con TP tuvieron la insulina en ayunas menor de ~9 ng/ml al comienzo del OGTT, un aumento temprano moderado a los 20 minutos en relación con el aumento de glucosa en sangre y concentraciones reducidas entre 40 minutos y 100 minutos. La I-AUC fue ligeramente menor en las ratas tratadas con TP.

20 Conclusión

25 El inhibidor de DP IV P32/98 (TP), proporcionado una vez al día, normalizó la glucosa en sangre por la mañana, redujo la hiperinsulinemia, mantuvo la glucosa en sangre en el perfil de día/noche por debajo de los 8,3 mmoles/l críticos (para pacientes diabéticos). El beneficio metabólico se conservó un tiempo limitado después del cese de la medicación de P32/98.

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de la actividad de la enzima dipeptidil peptidasa IV para uso para facilitar la estimulación de tipo
5 hormona del crecimiento de células pancreáticas a células funcionalmente activas de los Islotes de Langerhans para
uso en un método de tratamiento de la diabetes mellitus.

Fig. 1

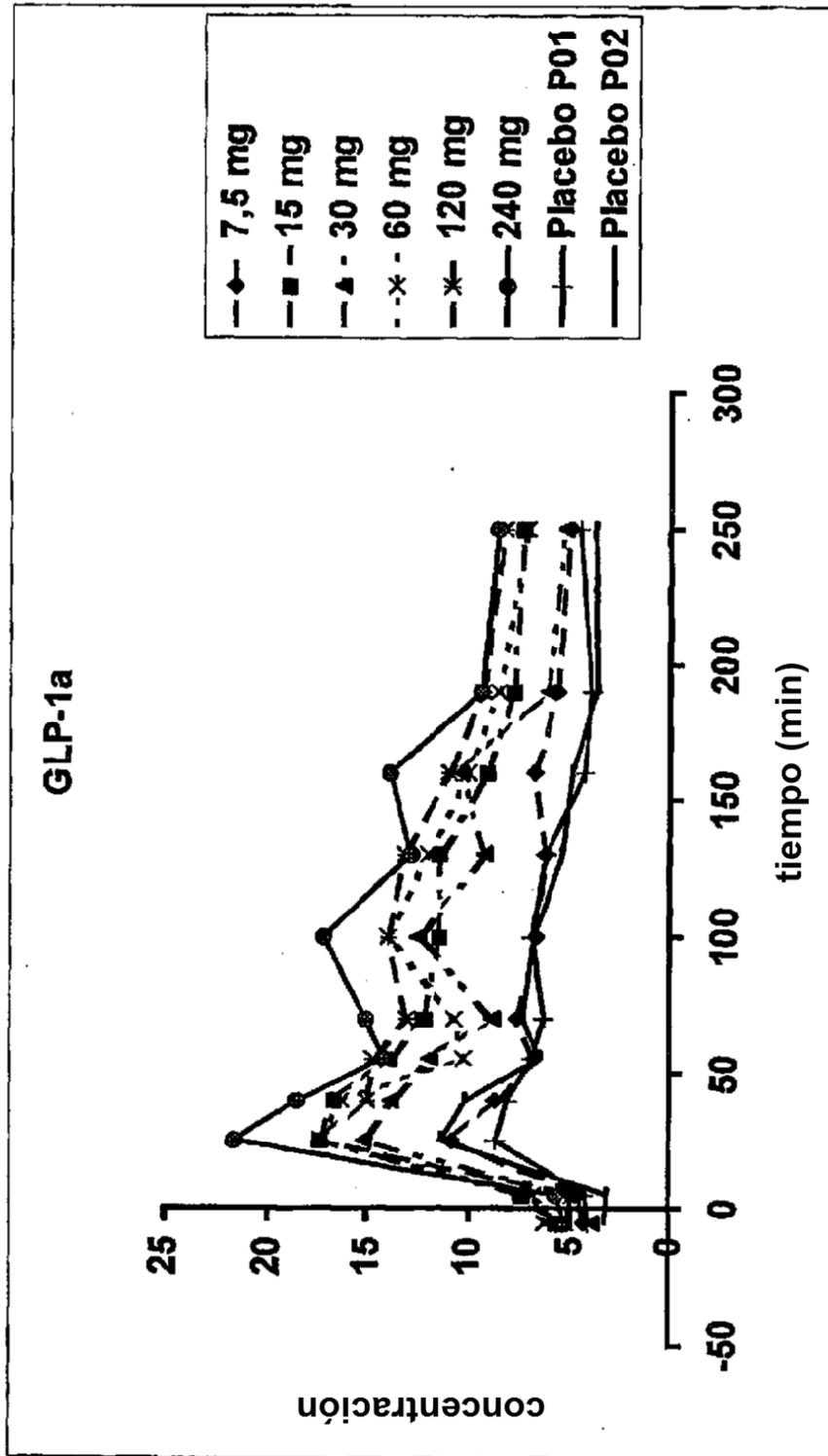


Fig. 2

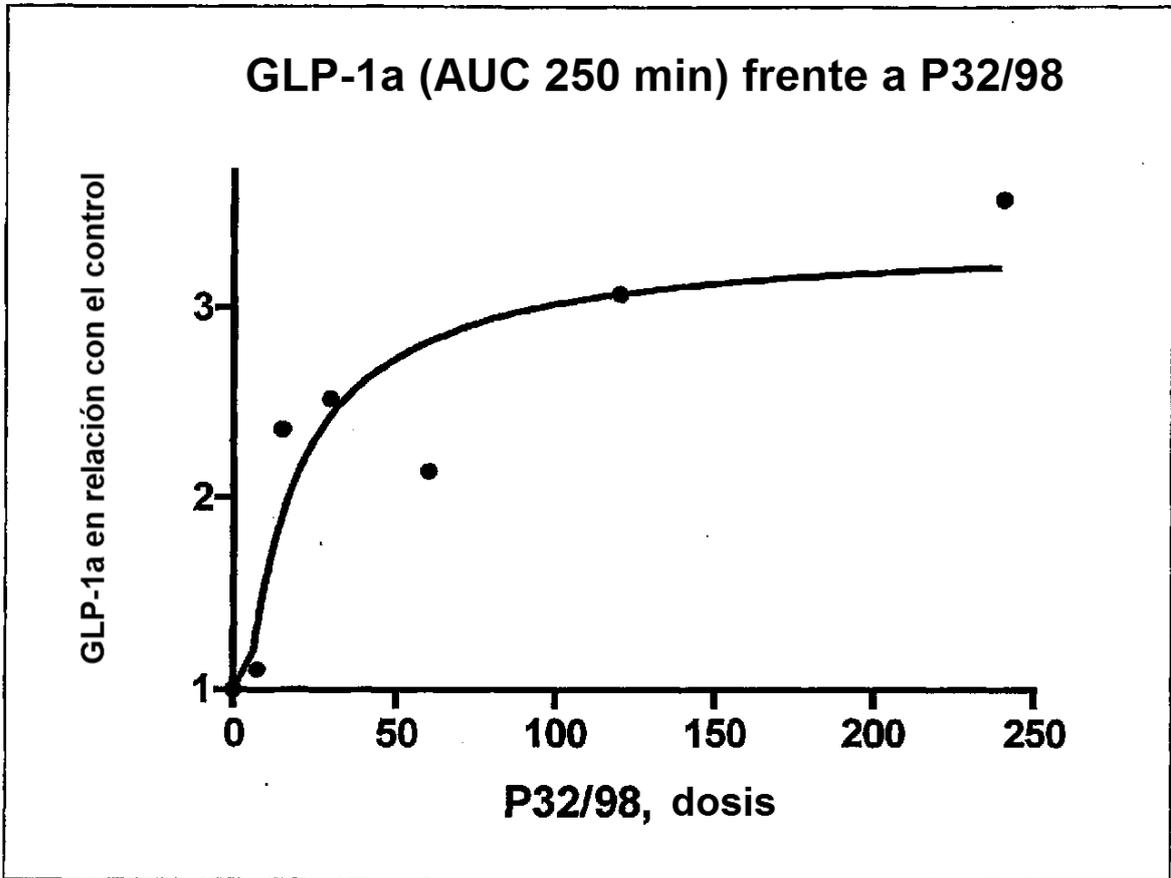


Fig. 3

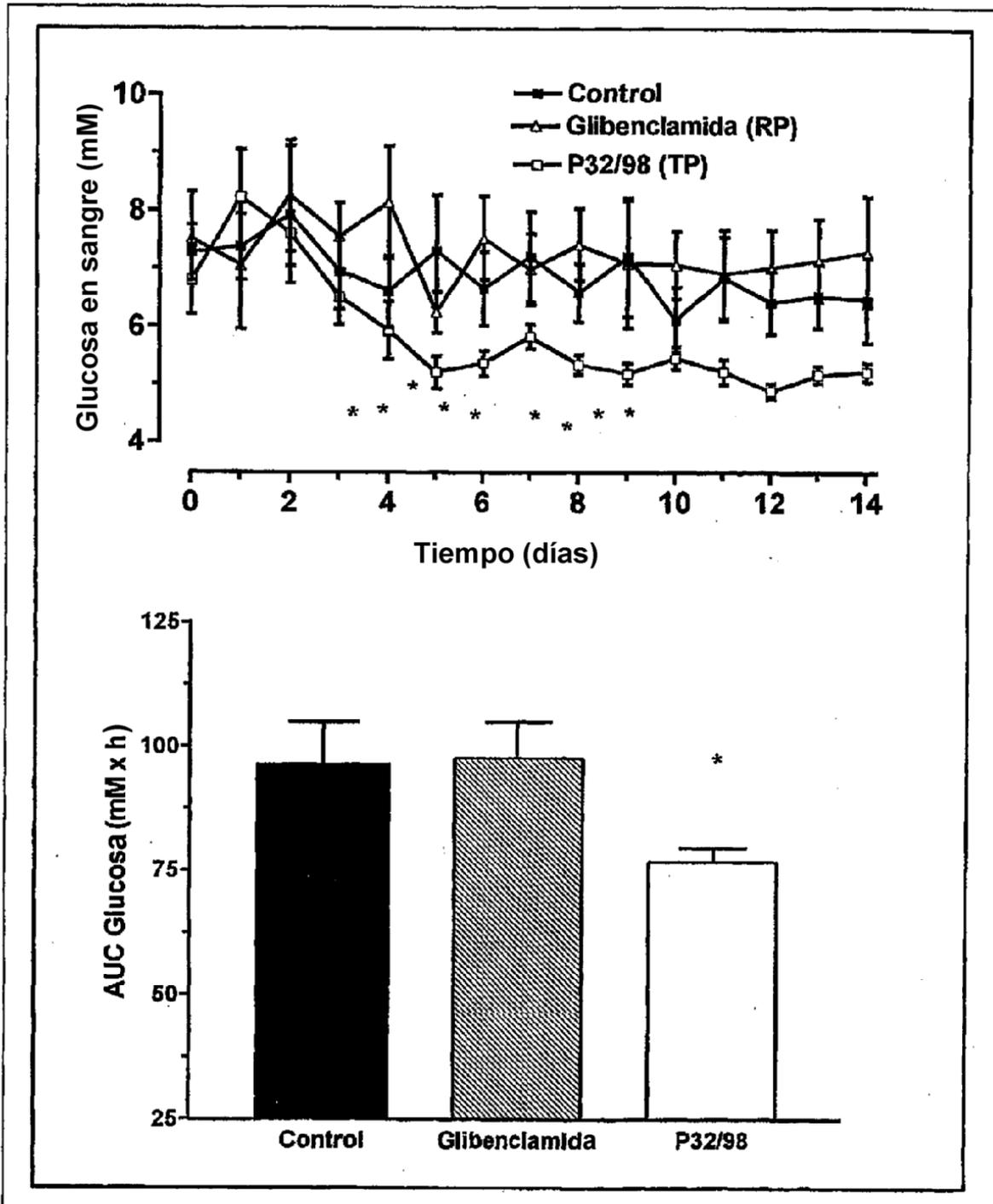


Fig. 4A.

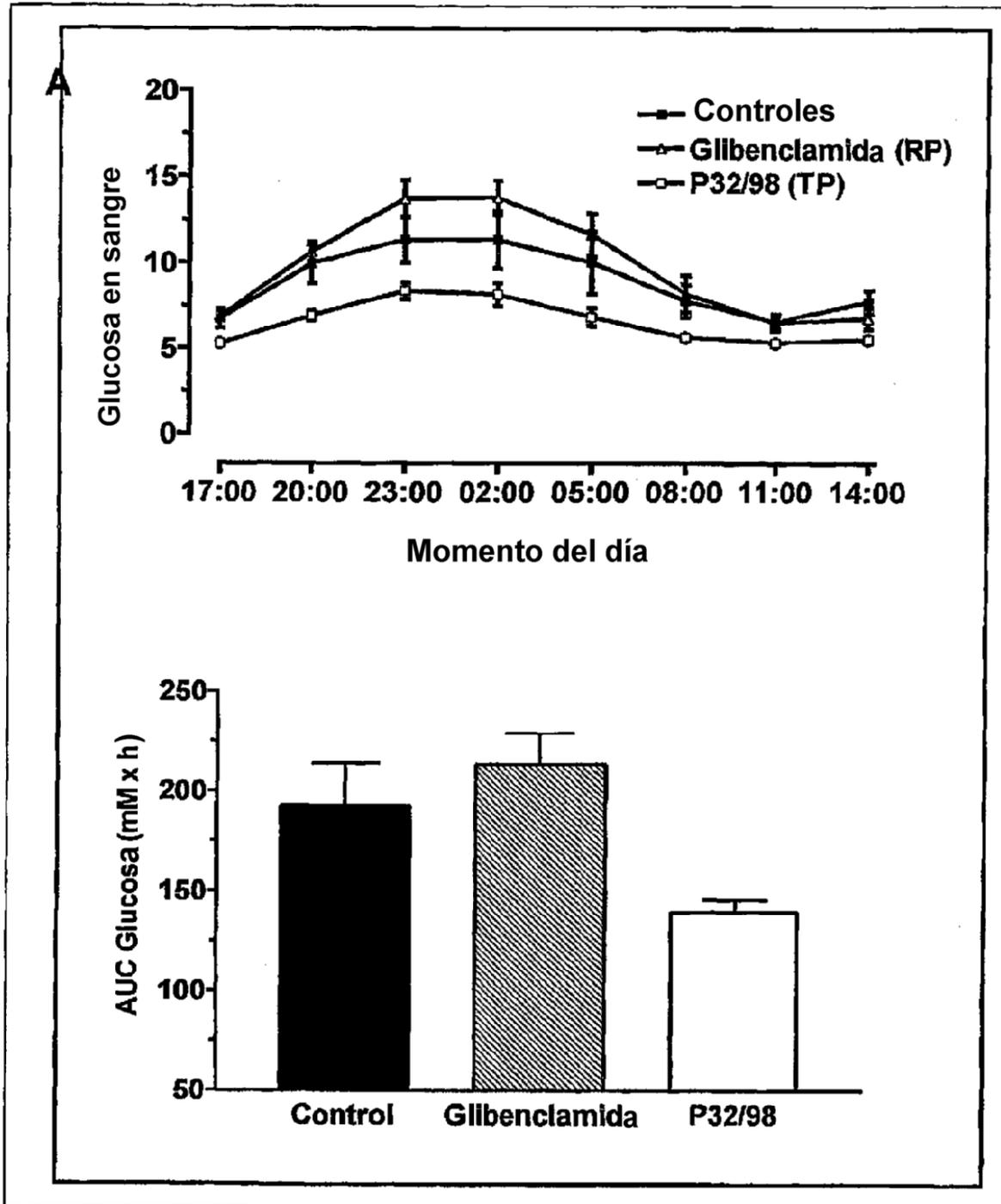


Fig. 4 B

B

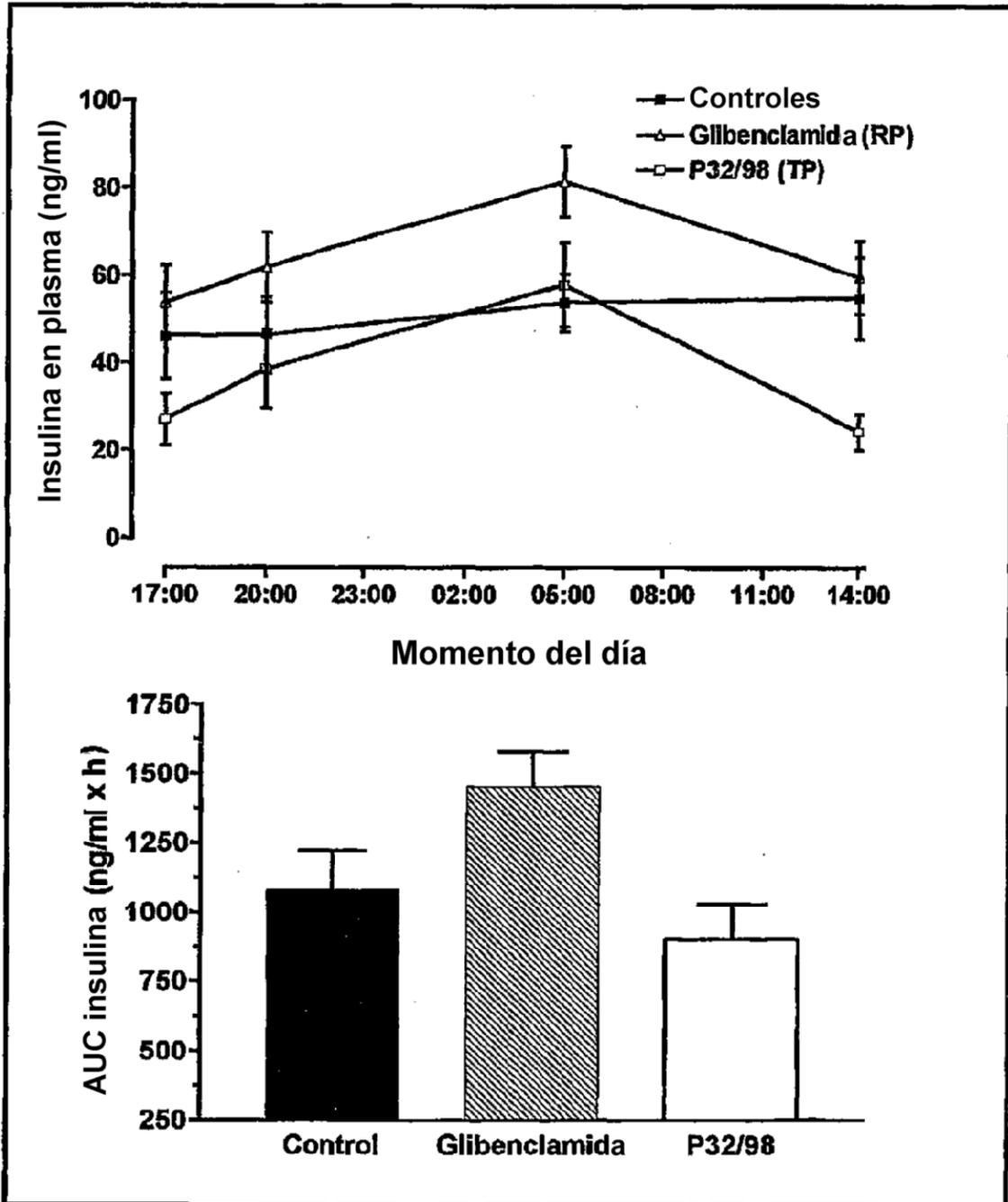


Fig. 5 A

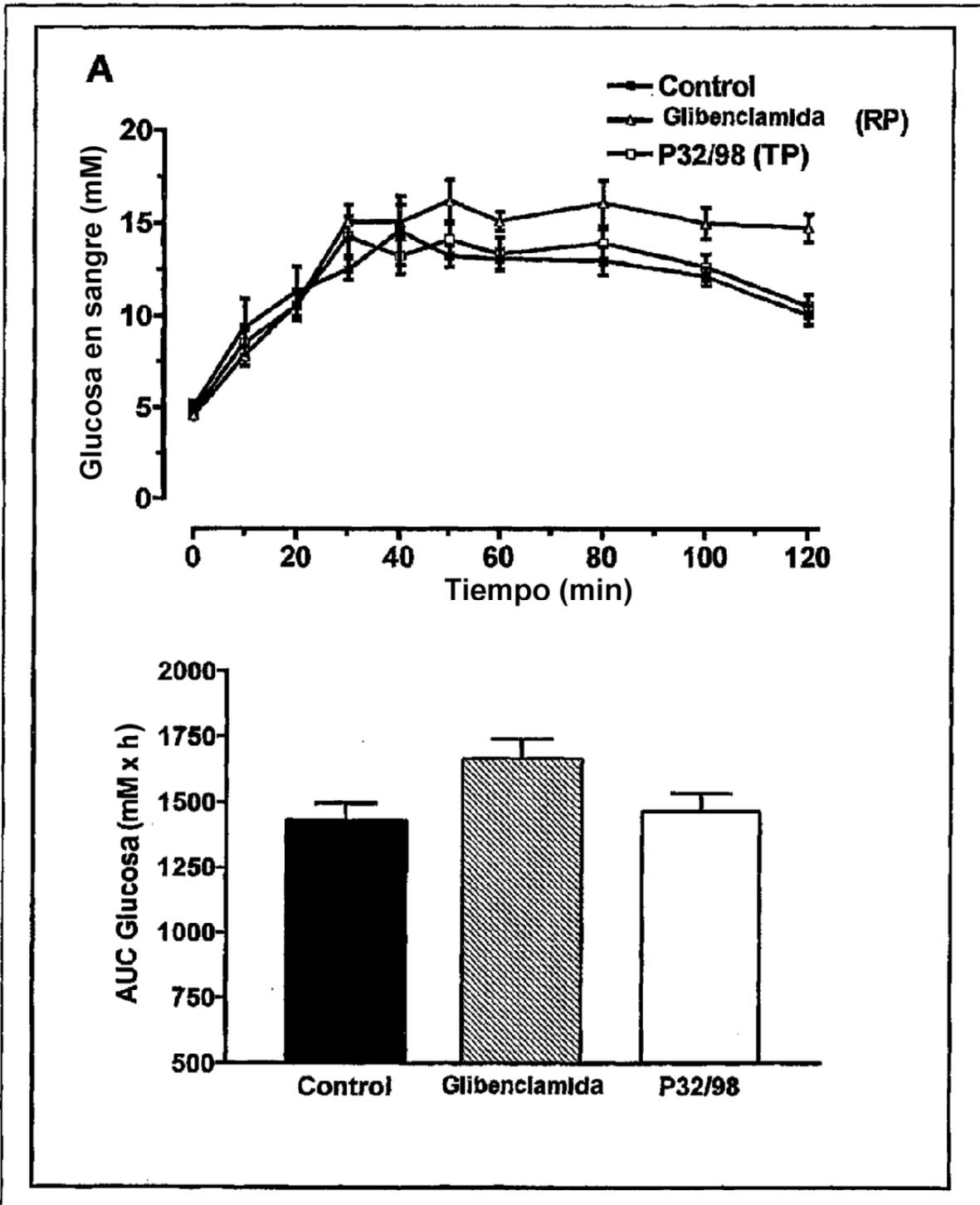


Fig. 5 B

