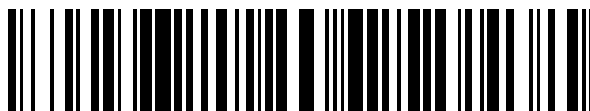


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 624**

51 Int. Cl.:

C07K 14/575 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2014** **PCT/US2014/024706**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.10.2014** **WO14165189**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2014** **E 14722420 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2017** **EP 2970424**

54 Título: **Polipéptidos de leptina canina modificados**

30 Prioridad:

13.03.2013 US 201361779337 P

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

17.11.2017

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (50.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US y
AMBRX, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

BLEDSON, MICHAEL;
CANNING, PETER CONNOR;
DEGUZMAN, MICHAEL;
KNUDSEN, NICK y
VALENTA, IANINA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 642 624 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 de leptina canina modificados

Referencia a las solicitudes relacionadas

5 La presente solicitud reclama el beneficio de la solicitud U.S. provisional N° 61/779.337, presentada el 13 de marzo de 2013.

Listado de secuencias

La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII y se incorpora a la presente memoria por referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 7 de marzo de 2014, se denomina 204257-0016-WO-00 (509186) _SL.txt y tiene un tamaño de 2.597 bytes.

10 La presente invención se refiere a un polipéptido de leptina canina modificado con polietilenglicol (PEG) y a composiciones y procedimientos relacionados útiles en el tratamiento de la obesidad de animales de compañía y otros trastornos relacionados con la leptina.

15 La leptina es una neurohormona que actúa en el hipotálamo para regular el balance energético y la ingesta de alimentos. Se ha escrito mucho acerca de los problemas asociados con la leptina y su receptor para los seres humanos (documento US2012/0149.636), pero los animales de compañía sufren también trastornos relacionados con la leptina. De particular importancia son los animales de compañía, tales como los cánidos, que experimentan trastornos relacionados con la leptina, tales como la obesidad. Aunque la administración de leptina exógena como terapia es conocida en los seres humanos, se ve obstaculizada por diversos problemas, no siendo el menor de los mismos la falta de provisión de un efecto duradero. De esta manera, se están realizando esfuerzos para encontrar mejores alternativas y estos esfuerzos
20 incluyen la búsqueda de compuestos más seguros, más duraderos y más potentes para los seres humanos, así como para los animales de compañía.

La presente invención proporciona un compuesto que comprende un polipéptido de SEC ID N°: 1 y un resto de polietilenglicol (PEG), en el que el resto de PEG está unido covalentemente a un resto de para-acetilfenilalanina (pAF) del polipéptido de SEC ID N°: 1.

25 La presente invención proporciona también un procedimiento de tratamiento de la obesidad en animales de compañía que comprende administrar a un animal que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto según la presente invención.

La presente invención proporciona también un procedimiento de prevención de la obesidad en animales de compañía que comprende administrar a un animal que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto según la presente invención.

La presente invención proporciona también un compuesto según la presente invención para su uso en terapia.

30 La presente invención proporciona también un compuesto según la presente invención para su uso en el tratamiento de la obesidad.

La presente invención proporciona también un compuesto según la presente invención para su uso en la prevención de la obesidad.

35 La presente invención proporciona también una composición que comprende el compuesto según la presente invención y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes.

La secuencia de aminoácidos del polipéptido es:

MVPIRKVQDD TKTLIKTI VA RINDISHTQS VSSKQRVAGL DFIPGLQPVL 50
SLSRMDQTLA IYQQILNSLH SRNVVQISND LENLRDLLHL LASSKSCPLP 100
RARGLET FES LXaaGVLEASLY STEVVALNRL QAALQDMLRR LDLSPGC 147

40

en la que Xaa es para-acetil-fenilalanina (pAF) (SEC ID N°: 1).

Un ejemplo de una molécula de ADN que codifica la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 1 es:

atg gtt cca att cga aag gtt caa gat gat acg aag aca ctg atc
 aag act atc gtg gcg cgc atc aac gat att tcg cat acc cag tca
 gtc tcg tcg aaa caa cgt gtg gct ggc tta gat ttt att cca ggg
 ctg caa ccg gta ctg tct ctg agc cgt atg gac caa act ctg gcc
 5 atc tac cag caa atc ctt aac tct ctg cat tct cgc aat gtg gtg
 caa atc tcg aac gat ctt gag aac ttg cgt gac ctg tta cat ctg
 tta gcc tca agc aaa tca tgc ccg ctg ccg cgt gca cgt ggc ctt
 gaa acg ttt gaa agt ttg tag ggt gtc ttg gaa gcg agt ctt tat
 tcc acc gaa gtc gtc gcc ctg aac cgc ctg cag gcc gca ctt caa
 10 gac atg ctt cgc cgt ctg gat ctg agt ccg ggt tgc (SEC ID N°: 2).

Como resultado del procesamiento, la primera metionina puede ser escindida y por lo tanto puede no estar presente en el polipéptido maduro, resultando en una mezcla de SEC ID N° 1 con y sin la primera metionina escindida. Preferentemente, la mezcla final contiene menos de diez (10) por ciento o menos de cinco (5) por ciento de SEC ID N° 1, en el que la primera metionina está escindida. Más preferentemente, la mezcla final contiene el 2 por ciento o menos de la SEC ID N° 1, en la que la primera metionina está escindida.

En la técnica se conocen aminoácidos que no ocurren naturalmente. Un aminoácido particular que no ocurre naturalmente se conoce como para-acetil-fenilalanina (pAF). Los polipéptidos de la invención pueden ser generados *in vivo* usando ARNt modificado y ARNt sintetasas para incorporar pAF en respuesta a un codón de parada ámbar en el gen que codifica el polipéptido tal como se describe en el documento US2012/0149.636. Un plásmido o vector de expresión que dirige la expresión del polipéptido de SEC ID N°: es transfectada en una cepa *E coli* K-12 W3110 modificado. La cepa huésped *E. coli* K-12 es un derivado W3110 que está modificada para contener el plásmido que contiene una secuencia de ADN con un codón de parada ámbar (TAG) en el sitio en el que se incorpora la pAF, Xaa en la posición 112 de la SEC ID N°: 1. El plásmido contiene también genes para un par de tirosil-ARNt modificado y de aminoacil-ARNt sintetasa (aa-RS) derivado de *Methanococcus jannaschii* DSM 2661 (MjTyrCUA-ARNt y Tyr-RS). Este par se modifica y se selecciona genéticamente para incorporar pAF en respuesta al codón de parada ámbar.

Los restos de PEG usados en la presente invención tienen pesos moleculares medios comprendidos entre 1 kDa y 100 kDa, o entre 1 kDa y 50 kDa, o entre 20 kDa y 50 kDa. Un resto PEG preferido tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kDa. Otro resto PEG preferido tiene un peso molecular de aproximadamente 30 kDa. Todavía otro resto PEG preferido tiene un peso molecular de aproximadamente 40 kDa. El término PEG se usa para abarcar tanto polímeros lineales como ramificados. La mayoría de los PEG están disponibles comercialmente. Preferentemente, el PEG es un PEG de 30 kDa (α -Metil- ω -aminooxietilcarbamil, polioxietileno.

Animal se refiere a animales de compañía, tales como perros y gatos.

Los compuestos de la invención son útiles en el tratamiento de un animal de compañía que tiene un trastorno modulado por la leptina. Dichos trastornos incluyen obesidad y trastornos inducidos por la obesidad y trastornos relacionados con la obesidad. La obesidad es una condición en la que hay un exceso de tejido adiposo en proporción al tejido magro. El tratamiento de la obesidad y de los trastornos inducidos por la obesidad o relacionados con la obesidad se refiere a la administración del compuesto de la presente invención para reducir la ingesta de alimentos, para reducir preferentemente la cantidad de tejido adiposo y para reducir el peso corporal de un animal de compañía obeso. Un resultado del tratamiento puede ser la reducción del peso corporal de un animal de compañía obeso con relación al peso corporal de ese animal antes de la administración de los compuestos de la presente invención. De manera adecuada, el tratamiento puede resultar en una reducción en la ingesta de alimentos o calorías por parte del animal, incluyendo una reducción en la ingesta total de alimentos y en la reducción de peso en los animales que lo necesitan. La prevención de la obesidad y los trastornos relacionados con la obesidad se refiere a la administración de los polipéptidos de la presente invención para reducir la ingesta de alimentos, para reducir el peso corporal o para mantener el peso corporal de un animal en riesgo de obesidad. Otro resultado de la prevención puede ser prevenir la recuperación del peso corporal perdido previamente como resultado de una dieta, ejercicio o farmacoterapia. Otro resultado de la prevención puede ser prevenir que se produzca la obesidad si el tratamiento se administra antes de la aparición de la obesidad en un animal en riesgo de obesidad.

Los compuestos de la presente invención pueden combinarse con, o pueden emplear, uno o más ingredientes activos diferentes en terapias para, y para tratar a, un animal que tiene un trastorno modulado por la leptina canina.

Un compuesto de la presente invención puede incorporarse en una composición adecuada para la administración a un animal. Dichas composiciones están diseñadas para ser apropiadas para el modo de administración seleccionado, y se usan, según sea apropiado, diluyentes, vehículos y/o excipientes aceptables, tales como agentes dispersantes, tampones, tensioactivos, conservantes, agentes solubilizantes, agentes de isotonicidad, agentes estabilizantes y similares. Dichas composiciones pueden ser diseñadas según las técnicas convencionales descritas, por ejemplo, en Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 19ª Edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995 que proporciona un compendio de técnicas de formulación conocidas en general por los médicos. Los vehículos adecuados para las composiciones incluyen cualquier material que, cuando se combina con un compuesto de la invención, retiene la actividad del compuesto y es no reactivo con el sistema inmune del animal. Una composición de la presente invención comprende un compuesto y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Una composición que comprende un compuesto de la presente invención puede administrarse a un animal en riesgo de presentar o que presenta enfermedades o trastornos, tal como se describe en la presente memoria, usando técnicas de administración estándar. Una composición de la invención contiene una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. Una cantidad eficaz se refiere a una cantidad (en dosis y para períodos de tiempo y medios de administración) para conseguir el resultado terapéutico deseado. Una cantidad eficaz del compuesto puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, la edad, el sexo y el peso del animal, y la capacidad del compuesto para provocar una respuesta deseada en el animal. Una cantidad eficaz es también una cantidad en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del compuesto se ve compensado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Una cantidad eficaz puede ser aproximadamente el 2% del peso corporal inicial del animal por semana hasta que el animal alcance el peso corporal deseado según lo determina el veterinario y el cliente. Una cantidad/dosis eficaz puede estar comprendida entre aproximadamente el 0,1 y aproximadamente 10 mg/kg de peso del animal por semana, administrada por ejemplo mediante inyección subcutánea. Una cantidad/dosis eficaz puede ser de 1 mg/kg administrada mediante inyección SC una vez por semana.

Ejemplo 1

El polipéptido de SEC ID N°: 1 se obtiene esencialmente tal como se describe en el documento US2012/0149.636. El polipéptido de SEC ID N°: 1 se formula a 4 mg/ml en Tris 20 mM pH 4,0; urea 2 M; y metionina 50 mM. A este polipéptido formulado, se añade PEG 30K (α -metil- ω -amimooxietilcarbamilato, polioxietileno, Sunbright ME-300CA, NOF, Japón) a una relación molar PEG a polipéptido de 10:1. El polipéptido y PEG se mezclan suavemente y se deja que la conjugación continúe durante 48-72 horas a 28°C. A continuación, el polipéptido PEGilado se purifica mediante cromatografía de intercambio catiónico de rutina y se formula a 1 mg/ml en PBS (solución salina tamponada con fosfato) 7,4 con trehalosa al 4%. Este procedimiento resulta en una mezcla que contiene entre 1-2% de la SEC ID N°: 1, en la que la primera metionina está escindida.

Datos biológicos *in vitro*

Las células HEK 293 se transfectan de manera estable tanto con el gen indicador de luciferasa bajo el control de un elemento de respuesta STAT3 como con el OB-Rb (receptor de leptina), que se expresa sobre la superficie celular. La leptina se une al receptor de leptina y activa los homodímeros STAT3 y los heterodímeros STAT3/STAT1, que interactúan y se unen con el elemento de respuesta de la secuencia STAT3. Esta interacción impulsa la expresión del gen de la luciferasa y estimula las células para producir luminiscencia. La cantidad de luminiscencia es proporcional a la actividad del compuesto. La actividad biológica se basa en el valor EC50 de una curva sigmoidal 4-PL.

Día uno

Las células se siembran en una placa de 96 pocillos a 20.000 células/pocillo y se colocan en una incubadora a 37°C, 5% de CO₂ durante 24-30 horas.

Día dos

La concentración inicial para la leptina canina de tipo salvaje (WT) y el polipéptido PEGilado del Ejemplo 1 es 1.200 ng/ml. A partir de esto, se toman 400 μ l de volumen de cada muestra y se realizan 4x diluciones en serie a través de las filas del bloque de dilución. En primer lugar, se añaden 300 μ l/pocillo de medio de ensayo a las Col 2-11. A continuación, se transfieren 100 μ l desde la Col 1 a la Col 2, se mezclan 8-10 veces cuidadosa y lentamente (sin burbujeo) y, a continuación, se continúa transfiriendo 100 μ l desde la Col 2 a la Col 3 y se repite hasta alcanzar la Col 11. La Col 12 se deja como pocillo de control no estimulado. Las células se estimulan a continuación con las diluciones en serie de la leptina canina de tipo salvaje (WT) y el polipéptido PEGilado del Ejemplo 1. Las células se sacan de la incubadora y el medio se aspira cuidadosamente desde cada pocillo. A continuación, 100 μ l/pocillo de WT diluida en serie y del polipéptido PEGilado se transfieren desde el bloque de dilución de pozo profundo a las células en las placas de ensayo de 96 pocillos. A continuación, se crean muestras duplicadas para WT y polipéptido PEGilado ensayados horizontalmente a través de la siguiente fila disponible. Las placas se incuban en una incubadora a 37°C, 5% de CO₂ durante 16-18 horas.

El formato de la placa con concentraciones finales en ng/ml se muestra a continuación.

[ng/ml]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Leptinac WT	1200	300	75	19	4,68	1,17	0,29	0,073	0,018	0,0046	0,0011	0
Leptinac WT	1200	300	75	19	4,68	1,17	0,29	0,073	0,018	0,0046	0,0011	0
Ejemplo 1	1200	300	75	19	4,68	1,17	0,29	0,073	0,018	0,0046	0,0011	0
Ejemplo 1	1200	300	75	19	4,68	1,17	0,29	0,073	0,018	0,0046	0,0011	0

Día tres

El tercer día, se prepara un sustrato y se añade a las células y estas se miden a continuación mediante un luminómetro. Aproximadamente 1-2 horas antes de la lectura de la placa, se descongela un conjunto de reactivos Steady-Glo (Promega), incluyendo: un vial del sustrato de ensayo de luciferasa Steady-Glo liofilizado y un vial de tampón de ensayo de luciferasa Steady-Glo por cada placa de ensayo a temperatura ambiente. Se pipetea todo el contenido del tampón de ensayo de luciferasa (~ 10,5 ml) en el sustrato de luciferasa liofilizado. Se añaden 100 µl/pocillo del sustrato de luciferasa reconstituido a cada pocillo de la placa de ensayo y la placa de ensayo se cubre con papel de aluminio y se incuba a temperatura ambiente durante 45-60 minutos en un agitador de placas a entre 450 y 600 rpm. A continuación, la placa se lee en un lector de placas Tecan GENiosPRO con tiempo de integración ajustado a 250 ms. Los datos se introducen a continuación en un archivo Excel y se lleva a cabo una determinación del valor EC50 en SigmaPlot Aplicación y se realizan también las determinaciones de la pérdida de actividad con relación a la leptina WT y de la potencia relativa porcentual. Se determina que la pérdida de actividad con respecto a la leptina canina de tipo salvaje es el valor [EC50 de la muestra] dividido por el valor [CE50 de la leptina de tipo salvaje]; la potencia relativa porcentual de las proteínas de leptina al estándar de referencia se calcula dividiendo el valor EC 50 del patrón de referencia por los valores EC50 de las proteínas de leptina y multiplicando por 100. Por ejemplo, el % de potencia relativa se calcula como el valor [CE50 del estándar referenciado] dividido por el valor [EC50 de la muestra] x 100. La tabla siguiente muestra WT y polipéptido PEGilado del Ejemplo 1 analizado usando estos procedimientos.

Tabla 1

Molécula	Exp. 1 (EC50)	Exp. 2 (EC50)	Exp. 3 (EC50)
Leptina canina WT (Ray Biotech)	1.504	1.954	1.729
Leptina humana WT (Ambrx)	2.052	3.589	2.820
Ejemplo 1	2.183	2.679	2.431

Los resultados muestran que el polipéptido PEGilado del Ejemplo 1 es activo *in vitro*

Datos biológicos *in vivo*

El objetivo de este estudio es evaluar el impacto del polipéptido PEGilado del Ejemplo 1 sobre el peso corporal, la composición corporal y el comportamiento alimenticio en perros machos y hembras obesos. El polipéptido PEGilado del Ejemplo 1 se formula a 5,1 mg/ml en solución salina tamponada con fosfato con un pH de 7,4 y 4,4% (p/v) de trehalosa.

Se usan dieciocho (18) perros, todos de más de un (1) año de edad: nueve (9) Beagles machos intactos y nueve (9) Beagles hembra intactos. Los perros son obesos, con un peso aproximado de 12 a 18 kg (de 26,4 a 39,6 libras). Durante las primeras cuatro semanas del período de aclimatación (o hasta que se consigue el peso inicial deseado), los perros son alimentados en el laboratorio con un alimento seco, con alto contenido de grasa (aproximadamente el 45%), que cumple o supera los requisitos nutricionales para el mantenimiento y la salud. Todos los perros son alimentados *ad libitum* durante esta parte del periodo de aclimatación para facilitar el aumento de peso. Durante las dos últimas semanas del periodo de aclimatación y durante el resto del estudio, todos los perros son alimentados con un alimento para perros seco comercial, con un contenido normal de grasa (aproximadamente del 12%), con el fin de reducir los niveles endógenos de leptina y restaurar la sensibilidad a la leptina. Los perros en los grupos de tratamiento 1 y 2 continúan recibiendo alimentos *ad libitum* durante el resto del estudio. Los animales en el grupo de tratamiento 3 son alimentados dos veces al día según las instrucciones de la etiqueta para la dieta. Los animales tienen acceso *ad libitum* al agua a través de cuencos o un sistema

de provisión de agua automático contenido en cada jaula. No se administran otros medicamentos concomitantes durante el transcurso del estudio.

Este estudio se lleva a cabo como un diseño de bloques aleatorizados dentro de cada género. Los perros son asignados aleatoriamente a las jaulas. Los animales son asignados a bloques según pesos corporales de referencia (día -14) dentro de cada género. Hay tres bloques con tres machos y tres bloques con tres hembras. El bloque uno de machos consiste en los 3 machos con los pesos corporales más bajos y el bloque uno de las hembras consistirá en las 3 hembras con los pesos corporales más bajos. Los segundos bloques dentro de cada género consisten en los 3 machos y las 3 hembras con los siguientes pesos corporales más bajos. El bloque final dentro de cada género contiene los 3 machos y las 3 hembras con los pesos corporales más altos.

La tabla siguiente muestra los tratamientos, los regímenes de dosificación y el número de animales empleados.

Tabla 2

Tratamiento	Régimen de dosificación	Nº de animales
1) Controles negativos tratados con solución salina estéril, alimentados <i>ad libitum</i>	SIDx5 Q7 Días	6 animales (3M/3F)
2) Tratados con el compuesto del Ejemplo 1 - 1 mg/kg, alimentados <i>ad libitum</i>	SIDx5 Q7 Días	6 animales (3M/3F)
3) Tratados con el compuesto del Ejemplo 1 - 1 mg/kg, alimentados dos veces al día	SIDx5 Q7 Días	6 animales (3M/3F)

Los animales se dividen en dos grupos de género de nueve animales. Dentro de cada grupo de género, los animales son clasificados según los pesos corporales, de menor a mayor, en base al Día -14. Los animales en cada grupo de género se dividen en bloques de tres animales en base a los pesos corporales iniciales crecientes. Los animales se asignan aleatoriamente a ubicaciones de jaula usando una tabla de asignación al azar proporcionada por el patrocinador.

Los grupos de control y los grupos tratados reciben una administración vía inyección subcutánea en los días 0, 7, 14, 21, 28. Se obtienen muestras de suero (aproximadamente 2-3 ml) antes de la inscripción en el estudio el día -14 antes de cambiar a los animales a la ración con bajo contenido en grasa para aclimatar a los perros al procedimiento de toma de muestras sanguíneas y establecer niveles de referencia de leptina endógena. La tabla siguiente proporciona el nivel de leptina circulante en los días -14 y -1.

Tabla 3

Tratamiento	Día -14 [Leptina]	Día -1 [Leptina]
1) Controles negativos tratados con solución salina estéril, alimentados <i>ad libitum</i>	9,9 ng/ml	3,4 ng/ml
2) Tratados con el compuesto del Ejemplo 1 - 1 mg/kg, alimentados <i>ad libitum</i>	10,7 ng/ml	3,7 ng/ml
3) Tratados con el compuesto del Ejemplo 1 - 1 mg/kg, alimentados dos veces al día	7,6 ng/ml	3,8 ng/ml

Los animales en todos los tres grupos de tratamiento se someten a exploraciones DEXA (absorciometría de rayos X de energía dual) el Día -1, el Día 21 y el Día 42 (el día final del estudio) para determinar los porcentajes de tejido magro frente a tejido adiposo.

El consumo de alimento diario se registra para los animales incluidos en los grupos de tratamiento 1 y 2 en los Días -7 a 42 aproximadamente al mismo tiempo cada uno.

Los animales en todos los grupos de tratamiento se graban en video las 24 horas del día desde el día 7 y continuando hasta el final del estudio para observar el comportamiento de alimentación, incluyendo el número de comidas al día y la

duración media de la alimentación por comida.

El criterio de valoración principal será el cambio en los pesos corporales individuales semanales durante el transcurso del estudio, y estos se resumirán y se compararán con los grupos de tratamiento. Los criterios de valoración secundarios serán:

- 5 La composición corporal: Los resultados de las exploraciones DEXA de los animales individuales, incluyendo los porcentajes de tejido magro y tejido adiposo, se resumirán durante el transcurso del estudio; y

El consumo de alimento/comportamiento de alimentación: El consumo de alimento diario promedio para los animales individuales en los tratamientos 1 y 2 se resumirá para cada animal.

- 10 Se observarán las cintas de video que registran el comportamiento de alimentación de los animales individuales para determinar el número de comidas y la duración de las comidas que consume cada animal antes del inicio del tratamiento y después del inicio del tratamiento.

Los resultados del impacto sobre los pesos corporales se proporcionan en la tabla siguiente.

Tabla 4

Grupo	Pérdida de peso (kg)
Grupo 1 – control	0,2 (1,3%)
Grupo 2 – tratado	2,2 (16,1%) ^A
Grupo 3 - tratado	2,1 (14,9%) ^B
^A p = 0,001; ^B p=0,002.	

- 15 Estos resultados indican que los grupos tratados con el compuesto del Ejemplo 1 perdieron más peso en comparación con el grupo control.

El impacto sobre la composición corporal se proporciona en la tabla siguiente

Tabla 5

Grupo	BCS	DESA Grasa	DEXA Magro
Grupo 1 – control	6,8/6,8	-8,1%	+3,1%
Grupo 2 – tratado	6,8/5,0 ^A	-40,2% ^C	-3,7%
Grupo 3 - tratado	7,2/5,5 ^B	-36,6 ^D	-1,7%
^A p = 0,006; ^B p = 0,049; ^C p = 0,022; ^D p=0,038.			

- 20 Estos resultados indican que los grupos tratados con el compuesto del Ejemplo 1 tuvieron una reducción en las puntuaciones de la condición corporal asociada con una reducción preferencial en el porcentaje de tejido adiposo y ningún impacto significativo sobre el porcentaje de tejido en comparación con el grupo de control.

El impacto sobre el consumo y el comportamiento de los piensos se proporciona en la tabla siguiente.

Tabla 6

Grupo	Alimento consumido (gm)	Comidas/día promedio	Tiempo comida/día promedio
Grupo 1	257,6	5/4	24/20
Grupo 2	157,4	5/4	23/15
Grupo 3	184,9	5/4	32/19

Estos resultados indican que los grupos tratados con el compuesto de Ejemplo consumieron menos alimento en comparación con el grupo de control y la reducción en la ingesta de alimentos se asoció con un menor tiempo dedicado a la comida comparado con el número de comidas consumidas al día.

Listado de secuencias

5 <110> ELI LILLY Y LA EMPRESA AMBRX, INC.
 <120> POLIPEPTIDOS DE LEPTINA CANINA MODIFICADA
 <130> 204257-0016-WO-00 (509186)
 <140>
 <141>
 10 <150> 61/779.337
 <151> 13/03/2013
 <160> 2
 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 15 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 20 <223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: Polipéptido sintético"
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (112)..(112)
 <223> Para-acetil-fenilalanina (pAF)
 25 <400> 1

```

Met Val Pro Ile Arg Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys
1           5           10           15

Thr Ile Val Ala Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser
                20           25           30

Ser Lys Gln Arg Val Ala Gly Leu Asp Phe Ile Pro Gly Leu Gln Pro
          35           40           45

Val Leu Ser Leu Ser Arg Met Asp Gln Thr Leu Ala Ile Tyr Gln Gln
50           55           60
  
```

35

ES 2 642 624 T3

Ile Leu Asn Ser Leu His Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp
65 70 75 80

Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Ser
85 90 95

5 Cys Pro Leu Pro Arg Ala Arg Gly Leu Glu Thr Phe Glu Ser Leu Xaa
100 105 110

Gly Val Leu Glu Ala Ser Leu Tyr Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Asn
115 120 125

10 Arg Leu Gln Ala Ala Leu Gln Asp Met Leu Arg Arg Leu Asp Leu Ser
130 135 140

Pro Gly Cys
145

<210> 2

15 <211> 441

ADN <212>

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <221> fuente

<223>/nota = "Descripción de la secuencia artificial: Polinucleótido sintético"

<400> 2

25 atggttccaa ttcgaaaggt tcaagatgat acgaagacac tgatcaagac tatcgtggcg 60
cgcatcaacg atatttcgca taccagtcga gtctcgtcga aacaacgtgt ggctggctta 120
gattttattc cagggctgca accggtactg tctctgagcc gtatggacca aactctggcc 180
atctaccagc aaatccttaa ctctctgcat tctcgcaatg tggtgcaa atctgaacgat 240
cttgagaact tgcgtgacct gttacatctg ttagcctcaa gcaaatcatg cccgctgccg 300
30 cgtgcacgtg gccttgaaac gtttgaaagt ttgtaggggtg tcttggaagc gagtctttat 360
tccaccgaag tcgtcgccct gaaccgcctg caggccgcac ttcaagacat gcttcgccgt 420
ctggatctca gtccgggttg c 441

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un polipéptido de SEC ID N°: 1 y un resto de polietilenglicol (PEG), en el que el resto de PEG está unido covalentemente a un residuo de para-acetil-fenilalanina (pAF) del polipéptido de SEC ID N°: 1.
- 5 2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho resto de PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 30 kDa.
3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que dicho resto de PEG es α -metil- ω -aminooxietilcarbamil o polioxietileno.
4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en terapia.
5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en el tratamiento de la obesidad en un animal de compañía.
- 10 6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en la prevención de la obesidad en un animal de compañía.
7. Compuesto para uso según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en el que el animal de compañía es un perro.
8. Composición que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes.

15