

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 672**

51 Int. Cl.:

A61K 38/06 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.02.2012 PCT/US2012/024684**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.08.2012 WO12109561**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2012 E 12709416 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2683393**

54 Título: **Composiciones tripeptídicas y su uso para el tratamiento de la diabetes**

30 Prioridad:

11.02.2011 US 201161441748 P

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

25.06.2018

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN (100.0%)
Office of Technology Transfer, 1600 Huron Parkway, 2nd Floor
Ann Arbor, MI 48109-2590, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, YUQING E.;
XUE, CHANGYONG y
ZHANG, JIFENG**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 673 672 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

Composiciones tripeptídicas y su uso para el tratamiento de la diabetes

5 Declaración de interés gubernamental

La presente invención se realizó con soporte del gobierno con las subvenciones n.º HL68878 y HL89544, otorgadas por el National Institutes of Health (NIH).

10 Campo de la invención

La presente invención se dirige a composiciones peptídicas para tratar la prediabetes, la diabetes, la obesidad, la hipertensión arterial y el síndrome metabólico.

15 Antecedentes

Nuestros organismos convierten los alimentos que ingerimos en glucosa de azúcar. La sangre transporta glucosa a las células, que la convierten en energía. Normalmente, una hormona proteínica denominada insulina controla el nivel de glucosa en sangre. Cuando hay defectos en la producción de insulina, en la acción de la insulina, o en ambas, se producen altos niveles de glucosa en sangre. La diabetes es el grupo de enfermedades caracterizadas por estos defectos.

20

Las tres formas más comunes de diabetes son la diabetes de tipo 1, la diabetes de tipo 2 y la diabetes gestacional. La diabetes de tipo 1 (anteriormente conocida como diabetes mellitus insulino dependiente o diabetes juvenil), en general, se desarrolla en la infancia o en la adolescencia. Se produce cuando el sistema inmune del organismo destruye las células del páncreas que producen insulina. Las personas con diabetes de tipo 1 deben controlar el nivel de azúcar en sangre varias veces al día y tomar insulina (a través de inyecciones o de una bomba) para mantener un nivel adecuado. La diabetes gestacional se produce cuando las mujeres embarazadas se vuelven intolerantes a la glucosa. La diabetes gestacional también requiere tratamiento para mantener niveles apropiados de glucosa en sangre y evitar complicaciones en el bebé. Las mujeres que tienen diabetes gestacional tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes de tipo 2.

25

30

La diabetes de tipo 2 (anteriormente conocida como diabetes mellitus no insulino dependiente o diabetes de inicio en adultos), en general, se desarrolla en la edad adulta. Se desarrolla primero cuando las células no usan la insulina correctamente y luego cuando el páncreas pierde su capacidad de producir insulina. Muchas personas con diabetes de tipo 2 controlan su glucosa en sangre con un plan de comidas, un programa de ejercicios, pérdida de peso y la ingestión de fármacos orales. Algunas personas con diabetes de tipo 2 también necesitan tomar insulina.

35

La diabetes es grave, porque demasiada azúcar en la sangre puede dañar los ojos, los riñones, el sistema nervioso y el corazón. Las complicaciones de la diabetes incluyen enfermedad cardíaca, ictus, hipertensión, ceguera, otros problemas oculares (tales como la retinopatía diabética), enfermedad renal, enfermedad del sistema nervioso (tal como sensibilidad o dolor en los pies o en las manos, ralentización de la digestión de los alimentos, síndrome del túnel carpiano y disfunción eréctil), amputaciones, enfermedad periodontal, susceptibilidad a otras enfermedades (tales como neumonía y gripe), problemas de movilidad y depresión. La diabetes no controlada puede provocar eventos agudos potencialmente mortales, tales como la cetoacidosis diabética y el coma hiperosmolar.

40

45

La diabetes es la principal causa de insuficiencia renal, amputaciones no traumáticas de miembros inferiores y nuevos casos de ceguera entre adultos en Estados Unidos. La diabetes es una causa importante de enfermedad cardíaca e ictus. La diabetes fue la séptima causa de muerte en Estados Unidos en 2007. En su conjunto, el riesgo de muerte entre las personas con diabetes es de aproximadamente el doble que entre las personas de edad similar sin diabetes. De acuerdo con los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, a partir de enero de 2011, la diabetes afectaba a 25,8 millones de personas, el 8,3 % de la población de Estados Unidos. Se estima que otros 79 millones de adultos estadounidenses tienen prediabetes, una afección en la que los niveles de azúcar en sangre son más altos de lo normal, pero no lo suficientemente altos como para ser diagnosticados como diabetes. La prediabetes a veces se denomina glucosa en ayunas alterada o tolerancia alterada a la glucosa. La prediabetes en sí misma aumenta el riesgo de diabetes de tipo 2, enfermedad cardíaca e ictus de las personas. Muchos prediabéticos desarrollan diabetes de tipo 2 en el transcurso de diez años.

50

55

Además de las intervenciones en el estilo de vida, los pacientes prediabéticos y diabéticos de tipo 2 suelen ser tratados con fármacos para tratar las complicaciones de la diabetes. Los médicos recetan fármacos para controlar la presión arterial y los lípidos en sangre para reducir las complicaciones cardiovasculares. A menudo, en pacientes más jóvenes y de mayor peso con función renal normal, los médicos prescriben el fármaco oral metformina para tratar más directamente los defectos que causan la diabetes. La metformina suprime la producción de glucosa hepática, aumenta la sensibilidad a la insulina, potencia la captación de la glucosa periférica, aumenta la oxidación de los ácidos grasos y disminuye la absorción de la glucosa desde el tracto gastrointestinal. La metformina, sin

60

65

embargo, está contraindicada en personas con cualquier afección que pueda aumentar el riesgo de acidosis láctica, incluyendo los trastornos renales, la enfermedad pulmonar y la enfermedad hepática.

Otros fármacos aprobados más recientemente no parecen ser más eficaces que la metformina, y cada uno tiene su propio conjunto de contraindicaciones. Por ejemplo, la rosiglitazona fue uno de los primeros sensibilizadores a la insulina usados como fármaco contra la diabetes. Hace que las células grasas sean más sensibles a la insulina. Las ventas anuales de rosiglitazona alcanzaron un máximo de aproximadamente 2,5 mil millones de dólares en 2006. Debido a que la rosiglitazona puede asociarse con un mayor riesgo de accidentes cardiovasculares, la Agencia Europea del Medicamento recomendó que el fármaco fuera suspendido del mercado europeo. La Agencia de Alimentos y Fármacos de EE. UU. ha permitido que permanezca en el mercado, pero quedó sujeta a restricciones significativas a partir del 23 de septiembre de 2010.

Un precursor de la insulina denominado péptido C de proinsulina humana, y fragmentos de péptido C, también se han investigado para el tratamiento de la diabetes. Véase, las publicaciones internacionales n.º WO 98/13384, WO 2002/022211, WO 2004/016647, WO 2006/129095 y WO 2007/015069. Véase también, Ohtomo *et al.*, *Diabetologia*, 41: 287-291 (1998); Sato *et al.*, *Cell. Mol. Life Sci.*, 61: 727-732 (2004); Hach *et al.*, *Exp. Diabetes Res.*: 1-6 (2008) y Ido *et al.*, *Science*, 277: 563-566 (1997).

Las proteínas alimentarias se componen de veinte aminoácidos diferentes, y los científicos han estudiado el efecto de los aminoácidos individuales cuando se ingieren con glucosa. Véase, Gannon y Nuttall, *IUBMB Life*, 62: 660-668 (2010); Gannon *et al.*, *Metabolism*, 37: 1081-1088 (1988); Gannon *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.*, 76: 1302-1307 (2002) y Kalogeropoulou *et al.*, *Metabolism*, 57: 1747-1752 (2008). Se ha informado que los aminoácidos leucina y glicina atenúan la respuesta de glucosa sérica y estimulan la secreción de insulina adicional. Sin embargo, este efecto requiere la ingestión de cantidades significativas de los aminoácidos, junto con el mal sabor, la ingestión desequilibrada de aminoácidos y los problemas de deterioro de la función renal.

El péptido-1 de tipo glucagón (GLP-1) es una hormona incretina. Las células intestinales secretan hormonas incretinas en respuesta a la ingestión de nutrientes. La principal función fisiológica de GLP-1 parece estar relacionada con el control glucémico. GLP-1 estimula la liberación de insulina, inhibe la secreción de glucagón, reduce el vaciamiento gástrico y aumenta la saciedad. En pacientes con diabetes de tipo 2, el efecto de la incretina se reduce, lo que contribuye a la alteración del control glucémico. Se ha informado que la administración de GLP-1 a los pacientes restablece la regulación de la glucosa en sangre a través de la secreción endógena de insulina. También se ha informado que la administración de GLP-1 reduce la ingestión de energía a través de sus acciones de retrasar el vaciamiento gástrico y aumentar la saciedad, por lo tanto, puede provocar la pérdida de peso. En la actualidad, hay dos agonistas/análogos del receptor de GLP aprobados para el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2, exenatida (Byetta®) y liraglutida (Victoza®), y otros están en desarrollo clínico. También se aprobó una formulación semanal de exenatida (Bydureon®). Véase, Barnett *et al.*, *Diabetes*, "Obesity and Metabolism". Artículo aceptado publicado en línea (2011).

Además, los estudios han demostrado que los agonistas del receptor de GLP-1 también afectan a las funciones relacionadas con el sistema cardiovascular, tales como la frecuencia cardíaca y la presión arterial. Véase, Grieve *et al.*, *British J. Pharm.*, 157a: 1340-1351

(2009). En un estudio particular, se alimentaron ratas Dahl sensibles a la sal (DSS) con una dieta rica en sal y se trataron con un mimético de exenatida (AC3174) solo o en combinación con un inhibidor de la ECA (captopril). AC3174 tuvo efectos antihipertensivos, sensibilizantes a la insulina y renoprotectores comparables a los del captopril. Véase, Liu *et al.*, *Cardiovascular Diabetology*, 9(32): 1-10 (2010).

Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica de nuevos tratamientos para la prediabetes, la diabetes y sus complicaciones. También existe en la técnica la necesidad de nuevos tratamientos para la obesidad, la hipertensión arterial y el síndrome metabólico.

Sumario

La presente invención proporciona una composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, GLL, LGL, LLG, LGG, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL, dLGdL, o unas de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que el péptido puede estar acilado, amidado o acilado y amidado, para su uso en el tratamiento de la prediabetes, la diabetes, la obesidad, la hipertensión arterial, el síndrome metabólico, el control glucémico deficiente o la secreción reducida de insulina; o para su uso en la prevención, la reducción o la mejora de una complicación asociada a la diabetes en un paciente diabético. La complicación asociada a la diabetes puede ser enfermedad cardiovascular, nefropatía crónica, insuficiencia renal, problemas de vejiga, disfunción eréctil, gastroparesis, una enfermedad ocular, una neuropatía diabética, úlceras en el pie o en la piel, o amputación de extremidades inferiores.

En todas las composiciones anteriores de uso, los péptidos pueden estar acetilados en el extremo N, amidados en el extremo C o ambas cosas. La composición se puede administrar por vía oral, intraperitoneal, ocular, intradérmica, intranasal, subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención incluyen una composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, GLL, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL o dLGdL., o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. También incluyen una composición, en la que la composición farmacéutica comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG o GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En las composiciones, los péptidos pueden estar acetilados en el extremo N, amidados en el extremo C o ambas cosas.

Se describe un kit para la administración de una composición farmacéutica que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, GLL, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL o dLGdL., o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que el kit comprende la composición, instrucciones para la administración de la composición y un dispositivo para administrar la composición al paciente. También se describe un kit en el que la composición farmacéutica comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG o GLL. En los kit, los péptidos pueden estar acetilados en el extremo N, amidados en el extremo C o ambas cosas.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de mortalidad entre los pacientes diabéticos, y representan casi dos de cada tres muertes. Así pues, la reducción al mínimo del riesgo de ECV es un objetivo clínico crítico en el tratamiento de los pacientes prediabéticos y diabéticos. La presente invención proporciona composiciones para su uso que mejoran el control glucémico y, al mismo tiempo, reducen el riesgo de accidentes cardiovasculares y otras complicaciones relacionadas con la diabetes.

Breve resumen de las figuras

La Figura 1 muestra el efecto de la glicina en la glucosa en sangre tras la carga oral de glicina y glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 2 muestra el efecto de la leucina en la glucosa en sangre tras la carga oral de leucina y glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 3 muestra que el Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones diabéticos KKay.

La Figura 4 muestra que el Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de almidón en ratones diabéticos KKay.

La Figura 5 muestra que el Diapin reduce la glucosa en sangre al azar en ratones diabéticos KKay.

La Figura 6 muestra que el Diapin estimula la secreción de insulina en ratones diabéticos KKay 30 minutos después de la carga oral de glucosa y Diapin.

La Figura 7 muestra que el Diapin estimula la secreción de GLP-1 en ratones diabéticos KKay 30 minutos después de la carga oral de glucosa y Diapin.

La Figura 8 muestra que el Diapin disminuye el nivel de glucosa en sangre del ratón con diabetes KKay de una manera dependiente del tiempo y de la dosis.

La Figura 9 muestra que el Diapin no tiene efecto sobre los niveles de glucosa en sangre en ayunas en ratones C57BL/6J.

La Figura 10 muestra que el Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la inyección ip de glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 11 muestra que otro péptido GGH no tiene efecto sobre la glucosa en sangre tras la inyección ip de glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 12 muestra el efecto de otros dos péptidos, LGG y LGL, sobre la glucosa en sangre tras la inyección ip de glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 13 muestra el efecto del péptido LLG en la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 14 muestra el efecto de los péptidos GLG y GLL sobre la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones C57BL/6J.

5 La Figura 15 muestra el efecto del Diapin y Diapin con un extremo C amidado sobre la glucosa en sangre tras la administración oral de glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 16 muestra el efecto del Diapin y Diapin con un extremo N acetilado en la glucosa en sangre tras la administración oral de la glucosa en ratones C57BL/6J.

10 La Figura 17 muestra el efecto del Diapin tanto con un extremo C amidado como con un extremo N acetilado sobre la glucosa en sangre tras la administración oral de glucosa en ratones C57BL/6J.

La Figura 18 muestra el efecto del Diapin administrado 30 minutos antes de la administración oral de glucosa sobre la glucosa en sangre en ratones C57BL/6J.

15 La Figura 19 muestra el efecto del Diapin administrado 1 hora antes de la administración oral de glucosa sobre la glucosa en sangre en ratones C57BL/6J.

20 La Figura 20 muestra el efecto del Diapin y de los dipéptidos sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa.

La Figura 21 muestra el efecto del Diapin y de los dipéptidos sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa.

25 La Figura 22 muestra el efecto del Diapin en ratones ob/ob tras la administración oral de glucosa.

La Figura 23 muestra el efecto del Diapin sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones db/db después de la administración oral de glucosa.

30 La Figura 24 muestra el efecto del Diapin sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones diabéticos inducidos por dieta rica en grasas después de la administración oral de glucosa.

La Figura 25 muestra el efecto del D-Diapin (compuesto de aminoácidos del D-isómero) sobre la disminución del nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa.

35 La Figura 26 muestra el efecto del Diapin sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa y la administración ip de Diapin.

40 La Figura 27 muestra el efecto de dipéptidos modificados sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa.

Descripción detallada

45 Los ejemplos de péptidos usados en las composiciones para el uso de la invención son GGL (denominado en el presente documento "Diapin"), GLG, LGL, LLG, LGG y GLL. La composición para el uso de la invención también proporciona los péptidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG y GLL, en los que cada leucina está independientemente en forma del isómero L o del isómero D. Los péptidos de la invención pueden sintetizarse químicamente o derivarse mediante la digestión de proteínas mediante métodos conocidos en la técnica.

50 Como se usan en el presente documento, las formas en singular "un", "una", y "el" y "la", incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

55 Se sabe en la técnica que es posible sustituir un aminoácido de un péptido o de una proteína por un aminoácido químicamente similar sin afectar negativamente a la actividad del péptido o de la proteína. Por lo tanto, se describe que un resto de glicina o leucina de un péptido descrito puede estar sustituido con un resto de aminoácido químicamente similar tal como un resto de aminoácido alifático diferente o un isómero de aminoácido. Otros aminoácidos alifáticos son la alanina, la valina y la isoleucina. También se contempla específicamente que es posible añadir aminoácidos químicamente similares a uno o a ambos extremos de un péptido de la invención sin afectar negativamente a la actividad del péptido.

60 A excepción de la glicina, todos los aminoácidos comunes contienen al menos un átomo de carbono quiral. Por lo tanto, estos aminoácidos existen como pares de estereoisómeros designados como el isómero L y el isómero D. La mayoría de las proteínas y de los péptidos de origen natural se componen exclusivamente de la forma isomérica L. Los aminoácidos isoméricos D pueden afectar a la configuración de un péptido o de una proteína, y pueden conducir a una mayor estabilidad o a un cambio en la actividad.

65

- 5 En algunas realizaciones del péptido, la leucina se reemplaza por D-leucina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el péptido es Glicina-Glicina-Leucina (GGL), o es Glicina-Glicina-D-Leucina (GGdL), o es Glicina-Leucina-Glicina (GLG), o es Glicina-D-Leucina-Glicina (GdLG), o es Leucina-Leucina-Glicina (LLG), o es D-Leucina-Leucina-Glicina (dLLG), o es Leucina-D-Leucina-Glicina (LdLG), o es D-Leucina-D-Leucina-Glicina (dLdLG), o es Leucina-Glicina-Glicina (LGG), o es D-Leucina-Glicina-Glicina (dLGG), o es Glicina-Leucina-Leucina (GLL), o es Glicina-D-Leucina-Leucina (GdLL), o es Glicina-Leucina-D-Leucina (GLdL), o es Glicina-D-Leucina-D-Leucina (GdLdL). Los péptidos de la invención pueden usarse individualmente o usarse como una mezcla de dos o más péptidos. Con respecto a una mezcla, la invención contempla específicamente cada posible subcombinación de péptidos.
- 10 En algunas realizaciones de la composición de uso, los péptidos se modifican químicamente. En algunas realizaciones, los péptidos se acetilan en el extremo N. En algunas realizaciones, los péptidos se amidan en el extremo C. En algunas realizaciones, los péptidos se acetilan en el extremo N y se amidan en el extremo C. Los péptidos se acetilan o se amidan mediante métodos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones de la presente divulgación, el péptido se glicosila, se carboxila, se fosforila, se esterifica o se convierte en una sal de adición de ácido y/u, opcionalmente, se dimeriza, se polimeriza, se pegila o se conjuga de otro modo.
- 15 En algunas realizaciones, los péptidos comprenden uno o más enlaces no peptídicos en lugar de enlace/s peptídico/s. Por ejemplo, los péptidos comprenden en lugar de un enlace peptídico, un enlace éster, un enlace éter, un enlace tioéter o un enlace amida.
- 20 Los ejemplos de composiciones para el uso de la invención son composiciones que comprenden uno o más de los péptidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG y GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Otros ejemplos de composiciones para el uso de la invención son composiciones que comprenden GGL, GLG, GLL, LLG, LGG, LGL, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL, dLGdL, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Las composiciones de la invención pueden incluir otros componentes, que incluyen otros aminoácidos. Con respecto a las composiciones, la invención contempla específicamente cada posible subcombinación de péptidos.
- 25 Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos o animales inferiores sin provocar una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionadas con una relación beneficio/riesgo razonable. Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal tóxica o sal de un éster de un compuesto de la presente invención que, tras su administración a un receptor, puede proporcionar, tanto directa como indirectamente, un compuesto de la presente invención. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, Berge *et al.* describen con detalle sales farmacéuticamente aceptables en *J. Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19 (1977).
- 30 Se contempla que los péptidos de la invención, o mezclas de los mismos, puedan usarse como el único principio activo del producto en la composición. Por consiguiente, en un aspecto de la invención, se proporcionan composiciones de uno o más de los péptidos de la invención en las que el péptido o los péptidos de la invención son el único principio activo. Así pues, una realización de la presente divulgación es una composición que consiste esencialmente en al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL o GLL, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Otra realización más es una composición que consiste esencialmente en al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLL, GGdL, GdLL, GLdL, GdLdL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Con respecto a las composiciones, la invención contempla específicamente cada posible subcombinación de péptidos.
- 35 En un aspecto adicional más, la invención proporciona una composición para el uso que comprende al menos un péptido como se ha descrito anteriormente y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 40 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLL, GGdL, GdLL, GLdL, GdLdL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, o GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Con respecto a las composiciones farmacéuticas, la invención contempla específicamente cada posible subcombinación de péptidos.
- 45 Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como vehículos, disolventes, estabilizantes, adyuvantes, diluyentes, etc., dependiendo del modo de administración y de la forma farmacéutica particular. En general, las composiciones se formulan para lograr un pH fisiológicamente compatible, y varían de un pH de aproximadamente 3 a un pH de aproximadamente 11, de un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 7, dependiendo de la formulación y de la vía de administración.
- 50 En realizaciones alternativas, el pH se ajusta hasta un intervalo de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 8. En diversos aspectos, las composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un péptido
- 55
- 60
- 65

según lo descrito en el presente documento, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones pueden incluir un segundo principio activo útil en el tratamiento o en la prevención del crecimiento bacteriano (por ejemplo y sin limitación, agentes antibacterianos o antimicrobianos).

5 Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, moléculas portadoras que incluyen macromoléculas metabolizadas lentamente, de gran tamaño, tales como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivas. Otros ejemplos de excipientes incluyen antioxidantes (por ejemplo y sin limitación, ácido ascórbico), agentes quelantes (por ejemplo y sin limitación, EDTA), hidratos de carbono (por ejemplo y sin limitación, dextrina, hidroxialquilcelulosa e hidroxialquilmetilcelulosa), ácido esteárico, líquidos (por ejemplo y sin limitación, aceites, agua, solución salina, glicerol y etanol), agentes humectantes o emulsionantes, sustancias tamponantes del pH y similares.

15 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración de los péptidos de la presente invención y los métodos para su preparación serán muy evidentes para los expertos en la materia. Dichas composiciones y dichos métodos para su preparación se pueden encontrar, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", The Science and Practice of Pharmacy, 20ª edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Md. (2000). Los péptidos de la presente invención se pueden formular para que sean de liberación inmediata y/o modificada.

20 El término "tratar" (u otras formas de la palabra tales como "tratamiento") se usa en el presente documento para indicar que la administración de una composición de la presente invención mitiga una afección en un paciente y/o reduce, inhibe o elimina una característica o un evento particular asociado con una afección. Así pues, el término "tratamiento" incluye, prevenir la aparición de una afección en un paciente, en particular, cuando el paciente tiene predisposición a adquirir la afección; reducir o inhibir la afección; y/o mejorar o revertir la afección. En la medida en que las composiciones para el uso de la presente invención están dirigidas a prevenir afecciones, se entiende que el término "prevenir" no requiere que la afección se impida por completo. Más bien, como se usa en el presente documento, el término prevención se refiere a la capacidad del experto en la materia para identificar una población que sea susceptible a la afección, de modo que la administración de las composiciones de la presente invención pueda ocurrir antes del inicio de la afección. El término no implica que la afección deba evitarse por completo.

30 Una "cantidad eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de un péptido de la invención suficiente para que se presente un efecto terapéutico detectable. El efecto se detecta, por ejemplo, mediante una mejora del estado clínico o una prevención, reducción o mejora de las complicaciones. La cantidad eficaz exacta para un paciente dependerá del peso corporal, del tamaño y de la salud del paciente; de la naturaleza y del alcance de la afección; y del agente terapéutico o de la combinación de agentes terapéuticos seleccionados para la administración. Las cantidades terapéuticamente eficaces para una situación dada se determinan mediante una experimentación rutinaria que se encuentra dentro de la habilidad y el criterio del médico.

40 La presente invención proporciona una composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL, dLGdL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que el péptido puede estar acilado, amidado o acilado y amidado, para su uso en el tratamiento de la prediabetes, la diabetes, la obesidad, la hipertensión arterial, el síndrome metabólico, el control glucémico deficiente o la secreción reducida de insulina; o para su uso en la prevención, la reducción o la mejora de una complicación asociada a la diabetes en un paciente diabético. En algunas realizaciones, La invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento de la obesidad, la hipertensión arterial o el síndrome metabólico. Por consiguiente, una realización de la composición de uso es una composición para su uso en el tratamiento de la obesidad, en la que el uso comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG o GGL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Otra realización más es una composición para su uso en el tratamiento de la hipertensión arterial, en la que el uso comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG, GLL, LG o GL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Otra realización es una composición para su uso en el tratamiento del síndrome metabólico, en la que el uso comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG o GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En cualquiera de las realizaciones anteriores, una o más leucinas del péptido se reemplazan independientemente con isómero D de leucina. Con respecto a las composiciones, la invención contempla específicamente cada posible subcombinación de péptidos.

60 En otro aspecto adicional, la invención proporciona composiciones para su uso en la prevención, reducción o mejora de las complicaciones asociadas a la diabetes en un paciente diabético, en el que el uso comprende la administración al paciente de una composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG o GLL. También se proporciona una composición para su uso en la prevención, la reducción o la mejora de una complicación asociada a la diabetes en un paciente diabético, en la que el uso comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, LGL, LLG, LGG o GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. También se proporciona una composición para su uso en la

prevención, la reducción o la mejora de una complicación asociada a la diabetes en un paciente diabético, en la que el uso comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL o LGdL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Con respecto a las composiciones, la invención contempla específicamente cada posible subcombinación de péptidos. En algunas realizaciones, la diabetes es diabetes de tipo 1. En algunas realizaciones, la diabetes es diabetes de tipo 2. La administración es de una cantidad de la composición que es terapéuticamente eficaz para prevenir, reducir o aliviar al menos una complicación asociada a la diabetes, que incluye, pero sin limitación, las siguientes: una enfermedad cardiovascular [por ejemplo, una enfermedad de la arteria coronaria (a veces denominada enfermedad cardíaca isquémica), enfermedades vasculares cerebrales (tales como ictus o ataques isquémicos transitorios), insuficiencia cardíaca, aterosclerosis o enfermedad arterial periférica], nefropatía crónica, insuficiencia renal, problemas de vejiga, disfunción eréctil, gastroparesis, una enfermedad ocular (tal como retinopatía diabética), cataratas o glaucoma), una neuropatía diabética (periférica, autonómica, proximal o focal), úlceras en el pie o en la piel, o amputación de extremidades inferiores.

Las composiciones de la presente invención se pueden administrar por cualquier vía adecuada. Por ejemplo, las composiciones de la invención se pueden administrar por vía oral, ocular, intradérmica, intraperitoneal ("ip"), intranasal, subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral incluyen, por ejemplo, sistemas sólidos, semisólidos y líquidos tales como comprimidos; cápsulas blandas o duras que contienen multipartículas o nanopartículas, líquidos o polvos; grageas (incluyendo las llenas de líquido); chicles; geles; formas farmacéuticas de dispersión rápida; películas; óvulos; pulverizados. En algunas realizaciones, los péptidos de las composiciones de la presente invención se formulan para la administración oral usando vehículos de administración conocidos en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, microesferas, liposomas, emulsiones secas con recubrimiento entérico o nanopartículas.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los péptidos activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de semillas de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes.

Las formas farmacéuticas sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el péptido activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polvinilpirrolidona, sacarosa y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender agentes tamponantes. Los principios activos pueden estar también en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha señalado anteriormente. También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Los preparados inyectables, por ejemplo, las suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. El preparado inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, solución de Ringer, U. S. P. y solución de cloruro sódico isotónica. Además, los aceites no volátiles estériles se emplean convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de los inyectables. Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de

composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

5 Se describe el tratamiento de pacientes diabéticos o prediabéticos con composiciones de la invención en combinación con otros fármacos para la diabetes conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el tratamiento con las composiciones de la invención permite una reducción de la dosis del otro u otros fármacos para la diabetes y, por lo tanto, reduce los efectos secundarios asociados con el otro u otros fármacos. En algunas realizaciones, el otro fármaco para la diabetes es insulina. En algunas realizaciones, el otro fármaco para la diabetes es una biguanida (tal como metformina). En algunas realizaciones, el otro fármaco para la diabetes es una tiazolindiona (tal como pioglitazona). En algunas realizaciones, el otro fármaco para la diabetes es un inhibidor de DPP-4 (tal como sitagliptina). En otras palabras, las composiciones de la presente invención se pueden usar en combinación con otros fármacos tales como los usados como tratamiento convencional para la afección que se trata. En algunas realizaciones, el fármaco es una estatina (incluyendo, pero sin limitación, atomastatina, lovastatina, simvastatina, pravastatina, rosuvastatina, fluvastatina y pitastatina). En algunas realizaciones, el fármaco es un fármaco antihipertensivo [incluyendo, pero sin limitación, inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (ECA) tales como captopril, lisinopril y ramipril; bloqueantes del receptor de la angiotensina II tales como losartán, olmesartán y valsartán; beta bloqueantes tales como metoprolol, nadolol y penbutolol; y bloqueantes de los canales de calcio tales como amlodipina, diltiazem y nifedipina].

20 Se describe un kit para administrar una composición de la invención a un paciente que la necesita, kit que comprende una composición de la invención, instrucciones de uso de la composición y un dispositivo para administrar la composición al paciente. En algunos ejemplos descritos, un kit para la administración de una composición farmacéutica comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, GLL, LLG, LGL, LGG, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL o dLGdL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que el kit comprende la composición, instrucciones para la administración de la composición y un dispositivo para administrar la composición al paciente. En algunos ejemplos descritos, el kit comprende una composición farmacéutica que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG o GLL. Con respecto a los kits, se describe cada subcombinación posible de péptidos.

30

Ejemplos

La invención se entenderá de manera más completa con referencia a los siguientes ejemplos, que detallan realizaciones ilustrativas de la invención.

35

Ejemplo 1

Se determinaron los efectos de los aminoácidos glicina y leucina sobre la glucosa en sangre.

40 Efecto de la glicina en la glucosa en sangre tras la carga oral de glicina y glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab (Bar Harbor, Maine). Los ratones en ayunas recibieron glucosa (2 mg/g de peso corporal, línea de diamantes de la Figura 1, n = 10) o glicina (0,35 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 1, n = 10) y glucosa por sonda. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

45

Los niveles de glucosa en sangre en cualquier punto de tiempo en el grupo de glicina no se modificaron significativamente en comparación con el grupo de control.

50 Efecto de la leucina en la glucosa en sangre tras la carga oral de leucina y glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron glucosa (2 mg/g de peso corporal, línea de diamantes de la Figura 2, n = 10) o leucina (0,35 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 2, n = 10) y glucosa por sonda. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

55

Ejemplo 2

60 El Diapin (péptido GGL de la invención) atenúa de forma potente los niveles de glucosa en sangre cuando es ingerido por vía oral con glucosa o almidón por un ratón diabético. Además, El Diapin también reduce los niveles de glucosa en sangre en condiciones no de ayuno en ratones diabéticos KKay [Yamauchi *et al.*, *Nat. Med.*, 7(8): 971-946 (2001)]. Véase la Figura 3.

El Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones diabéticos

65

Los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 min en el grupo de Diapin fueron significativamente inferiores a los del control.

El Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de almidón en ratones diabéticos

5 Se realizó un experimento en ratones diabéticos KKay macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En el grupo de control (línea de diamantes de la Figura 4, n = 10), se administró almidón por vía oral a una dosis de 2 mg/g de peso corporal. En el grupo de Diapin (línea de cuadrados de la Figura 4, n = 9), se administraron almidón y Diapin por vía oral a dosis de 2 mg/g de peso corporal y 1 mg/g de peso corporal, respectivamente. Se midió la glucosa en sangre 10 a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración por sonda del almidón y Diapin.

Los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 min en el grupo de Diapin fueron significativamente inferiores a los del control.

15 El Diapin reduce la glucosa en sangre al azar en ratones diabéticos

Se realizó un experimento en ratones diabéticos KKay macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En condiciones de no ayuno, en el grupo de control (línea de diamantes de la Figura 5, n = 9), se administró agua destilada por vía oral, y en el grupo de Diapin (línea de cuadrados de la Figura 5, n = 9), se administró Diapin por vía oral a 1 mg/g de peso corporal. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos después de la administración por sonda de Diapin. 20

Los niveles de glucosa en sangre a los 60, 90, 120, 150 y 180 min en el grupo de Diapin fueron significativamente inferiores a los del control. 25

Ejemplo 3

El Diapin en sí estimula la secreción de insulina en ratones diabéticos KKay. Además, el Diapin también aumenta la secreción de GLP-1 en ratones diabéticos. 30

El Diapin estimula la secreción de insulina en ratones diabéticos tras la carga oral de glucosa y Diapin

Se realizó un experimento en ratones diabéticos KKay macho adultos. En condiciones de ayunas, en el grupo de control (barra blanca de la Figura 6, n = 11), se administró glucosa por vía oral a una dosis de 1,5 mg/g de peso corporal. En el grupo de Diapin (barra negra de la Figura 6, n = 11), se administraron Diapin y glucosa por vía oral a 1 mg/g de peso corporal y 1,5 mg/g de peso corporal, respectivamente. Se tomaron muestras de sangre a los 30 minutos después de la administración oral de glucosa y Diapin. Se controló la glucosa en sangre con el medidor de glucosa FreeStyle y se midió la insulina mediante ELISA (Alpco, Cat n.º 80-INSMS-E01). 35

El Diapin estimuló la secreción de insulina en ratones diabéticos KKay. 40

El Diapin estimula la secreción de GLP-1 en ratones diabéticos tras la carga oral de glucosa y Diapin

Se realizó un experimento en ratones diabéticos KKay macho adultos. En condiciones de ayunas, en el grupo de control (barra blanca de la Figura 7, n = 11), se administró glucosa por vía oral a dosis de 1,5 mg/g de peso corporal, y en el grupo de Diapin (barra negra de la Figura 7, n = 11), se administraron Diapin y glucosa por vía oral a 1 mg/g de peso corporal y 1,5 mg/g de peso corporal, respectivamente. Se tomaron muestras de sangre a los 30 minutos después de la administración oral de glucosa y Diapin. El GLP-1 se midió mediante ELISA (Alpco, Cat n.º 43-GP1HU-E01). 45

El Diapin también aumenta la secreción de GLP-1 en ratones diabéticos. 50

Ejemplo 4

55 El Diapin ingerido con la dieta disminuye los niveles de glucosa en sangre al azar de los ratones diabéticos KKay de una manera dependiente del tiempo y de la dosis.

Se realizó un experimento en ratones diabéticos KKay macho adultos. Se dividieron los ratones en tres grupos de 10 animales cada uno y se alimentaron, *ad libitum*, con pienso normal (control), con pienso, con pienso mezclado con 6 g de Diapin/kg, o pienso mezclado con 12 g de Diapin/kg durante el experimento. Los niveles de glucosa en sangre se midieron semanalmente a primera hora de la mañana al inicio (semana 0) y cada semana desde entonces durante 4 semanas. Los resultados se muestran en la Figura 8. 60

Los niveles de glucosa en sangre en ambos grupos alimentados con pienso mezclado con Diapin fueron significativamente inferiores a los del control. 65

Ejemplo 5

El Diapin no reduce los niveles de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J no diabéticos cuando los niveles de glucosa en sangre están a niveles normales.

5

El Diapin no tiene efecto sobre los niveles de glucosa en sangre en ayunas en ratones C57BL/6J

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones recibieron agua (línea de diamantes de la Figura 9, n = 6) o Diapin (2 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 9, n = 6). Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos después de la administración oral de Diapin.

10

No hubo diferencia significativa en los niveles de glucosa en sangre entre los grupos.

Ejemplo 6

El Diapin, LGL, LGG reducen los niveles de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J no diabéticos tras la carga de glucosa por vía intraperitoneal. En comparación, el péptido GGH no lo hace.

15

El Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la inyección ip de glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron agua (línea de diamantes de la Figura 10, n = 10) o Diapin (1 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 10, n = 10). La glucosa se administró por inyección ip 10 minutos después de la administración oral de Diapin. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

25

Los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 min en el grupo de Diapin fueron significativamente inferiores a los del control.

El péptido GGH no tiene un efecto significativo sobre la glucosa en sangre tras la inyección ip de glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron agua (línea de diamantes de la Figura 11, n = 10) o GGH (1 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 11, n = 10). La glucosa se administró por inyección ip 10 minutos después de la administración oral de GGH. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

35

Los niveles de glucosa en sangre en cualquier punto de tiempo en el grupo de GGH no se modificaron significativamente en comparación con los ratones de control.

Los péptidos LGG y LGL inhiben el aumento de la glucosa en sangre tras la inyección ip de glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron agua (línea de diamantes de la Figura 12, n = 10) o LGL (1 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 12, n = 10) o LGG (1 mg/g de peso corporal, línea de triángulos de la Figura 12, n = 10). La glucosa se administró por inyección ip 10 minutos después de la administración oral de LGG o LGL. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

45

Los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 min en el grupo de LGL son significativamente inferiores a los del control. El péptido LGG reduce los niveles de glucosa en sangre a los 30 y 60 minutos.

50

Ejemplo 7

Los péptidos LGL, GLG, LLG y GLL reducen significativamente los niveles de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J no diabéticos cargados con glucosa.

55

Efecto de LLG en la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En el grupo de control (línea de diamantes de la Figura 13, n = 10), se administró glucosa por vía oral a una dosis de 2 mg/g de peso corporal. En el grupo de Diapin y LLG (línea de cuadrados o línea de triángulos, n = 9), se administraron Diapin o glucosa y LLG por vía oral a dosis de 2 mg/g de peso corporal y 1 mg/g de peso corporal, respectivamente. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración por sonda de la glucosa y del Diapin.

60

El LLG mostró efectos similares al Diapin.

65

Efecto de los péptidos GLG y GLL en la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa

Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En el grupo de control (línea de diamantes de la Figura 14, n = 10), se administró glucosa por vía oral a una dosis de 2 mg/g de peso corporal. En el grupo DE GLG y GLL (línea de triángulos o línea de círculos de la Figura 14, n = 9), se administraron glucosa y GLG o GLL por vía oral a la dosis de 2 mg/g de peso corporal y 1 mg/g de peso corporal, respectivamente. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración por sonda de GLG o GLL.

10 Cada uno de los péptidos GLG y GLL mostró efectos similares al Diapin.

Ejemplo 8

15 La amidación y la acetilación no disminuyen la reducción de la glucosa del Diapin. Se amidó el Diapin mediante el método descrito en Bergstrom *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 280: 23114-23121 (2005) y/o se acetiló mediante el método descrito en John *et al.*, *Eur. J. Med. Res.*, 13: 73-78 (2008).

Efecto de la amidación en el Diapin

20 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En el grupo de control (línea de diamantes de la Figura 15, n = 10), se administró glucosa por vía oral a una dosis de 2 mg/g de peso corporal. En el grupo de Diapin (línea de cuadrados de la Figura 15, n = 9), se administraron glucosa y Diapin por vía oral a dosis de 2 mg/g de peso corporal y 1 mg/g de peso corporal, respectivamente. En el grupo de Diapin amidado (línea de cuadrados de la Figura 15, n = 9), se administraron glucosa y Diapin amidado por vía oral a dosis de 2 mg/g de peso corporal y 1 mg/g de peso corporal, respectivamente. Se midió la glucosa en sangre a las 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas después de la administración por sonda de la glucosa, Diapin y Diapin amidado.

Los niveles de glucosa en sangre a las 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas en el grupo de Diapin y en el grupo de Diapin amidado fueron significativamente inferiores a los del control.

Efecto de la acetilación en el Diapin

35 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En el grupo de Diapin (línea de diamantes de la Figura 16, n = 10), se administraron glucosa y Diapin por vía oral a dosis de 2 g/kg de peso corporal y 1 g/kg de peso corporal, respectivamente. En el grupo de Diapin acetilado (línea de cuadrados de la Figura 16, n = 10), se administraron glucosa y Diapin acetilado por vía oral a dosis de 2 g/kg de peso corporal y 1 g/kg de peso corporal, respectivamente. Se midió la glucosa en sangre a las 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas después de la administración por sonda de la glucosa, Diapin y Diapin acetilado.

40 Los niveles de glucosa en sangre a las 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas en el grupo de Diapin fueron significativamente diferentes a los del grupo de Diapin acetilado.

Efecto de la doble modificación en el Diapin

45 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. En el grupo de Diapin (línea de triángulos de la Figura 17, n = 9), se administraron glucosa y Diapin por vía oral a dosis de 2 g/kg de peso corporal y 1 g/kg de peso corporal, respectivamente. En el grupo de Diapin amidado/acetilado (línea de cuadrados, n = 9), se administraron glucosa y Diapin amidado/acetilado por vía oral a dosis de 2 g/kg de peso corporal y 1 g/kg de peso corporal, respectivamente. Se midió la glucosa en sangre a las 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas después de la administración por sonda de la glucosa, Diapin y Diapin amidado/acetilado.

Los niveles de glucosa en sangre a las 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 horas en el grupo de Diapin fueron significativamente diferentes a los del grupo de Diapin amidado/acetilado.

Ejemplo 9

El Diapin reduce los niveles de glucosa en sangre cuando se administra por vía oral antes de la administración de glucosa.

Efecto del Diapin administrado a los 30 minutos antes de la administración oral de glucosa

60 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron agua (línea de diamantes de la Figura 18, n = 10) o Diapin (1 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 18, n = 10), luego glucosa oral por sonda a 2 g/kg de peso corporal tras 30 min. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

Los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60 y 120 min en el grupo de Diapin fueron significativamente inferiores a los del control.

Efecto del Diapin administrado 1 hora antes de la administración oral de glucosa

5 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron agua (línea de diamantes de la Figura 19, n = 10) o Diapin (1 mg/g de peso corporal, línea de cuadrados de la Figura 19, n = 10), luego glucosa oral por sonda a 2 g/kg de peso corporal tras 1 hora. Se midió la glucosa en sangre a los 0, 30, 60 y 120 minutos después de la administración de la glucosa.

10 Los niveles de glucosa en sangre a los 30 y 60 min en el grupo de Diapin fueron significativamente inferiores a los del control.

Ejemplo 10

15 El dipéptido GG no reduce significativamente los niveles de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa.

Efecto del Diapin y de los dipéptidos GG y GL en el nivel de glucosa en sangre después de la administración oral de glucosa

20 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Ratones en ayunas recibieron 200 mg/kg de peso corporal de glucosa (línea de diamantes de la Figura 20, n = 10) o 200 mg/kg de peso corporal de glucosa más Diapin (línea de cuadrados de la Figura 20, 1 mg/g de peso corporal, n = 10), GG (línea de círculos de la Figura 20, 0,67 mg/g de peso corporal, n = 10) o GL (línea de triángulos de la Figura 20, 0,67 mg/g de peso corporal, n = 10). Se midió la glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa. El Diapin sirvió como un control positivo en el experimento.

25 El Diapin redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 min. El péptido GL redujo el nivel de glucosa en sangre a los 30 minutos, mientras que el péptido GG no redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre en comparación con el Diapin.

Efecto del Diapin y del dipéptido GL en el nivel de glucosa en sangre después de la administración oral de glucosa

35 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Ratones en ayunas recibieron 200 mg/kg de peso corporal de glucosa (línea de triángulos de la Figura 21, n = 10), 200 mg/kg de peso corporal de glucosa más Diapin (línea de cuadrados de la Figura 21, 1mg/g de peso corporal, n = 10) o LG (línea de triángulos de la Figura 21, 0,67 mg/g de peso corporal, n = 10). Se midió la glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa. El Diapin sirvió como un control positivo en los experimentos.

40 El dipéptido LG mostró un efecto más transitorio que el Diapin en la reducción de los niveles de glucosa en sangre. El Diapin redujo los niveles de glucosa en sangre en todos los puntos de tiempo medidos, mientras que el dipéptido LG redujo los niveles de glucosa en sangre solo a los 30 y 60 minutos.

Ejemplo 11

45 El Diapin reduce el nivel de glucosa en sangre en ratones ob/ob [Liu *et al.*, *Diabetes*, 52(6):1409-16 (2003)] tras la administración oral de glucosa.

50 Se realizó un experimento en ratones B6.V-Lepob/J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron 2 mg/g de glucosa (n = 10) o 2 mg/g de peso corporal de glucosa más Diapin (1 mg/g de peso corporal, n = 10) por sonda. Se midieron los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa y del Diapin.

55 Como se muestra en la Figura 22, el Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones ob/ob.

Ejemplo 12

60 El Diapin también reduce el nivel de glucosa en sangre en ratones db/db [Chen *et al.*, *Cell*, (3):491-495 (1996) y Hummel *et al.*, *Science*, 153 (740):1127-1128 (1966)] tras la administración oral de glucosa.

65 El experimento se realizó en ratones BKS.Cg-m +/+ Leprdb/J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron 2 mg/g de peso corporal de glucosa (n = 10) o 2 mg/g de peso corporal de glucosa más Diapin (1 mg/g de peso corporal, n = 10) por sonda. Se midieron los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa y del Diapin.

Como se muestra en la Figura 23, el Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones db/db.

Ejemplo 13

5 El Diapin reduce el nivel de glucosa en sangre en ratones diabéticos inducidos por dieta rica en grasas [Tomas *et al.*, *Diabetes Obes. Metab.*, 13(1):26-33 (2011) y Dezaki *et al.*, *Diabetes*, 55 (12):3486-93 (2006)] tras la administración oral de glucosa.

10 Se alimentaron ratones C57BL/6J macho de tipo silvestre adquiridos en Jackson Lab con dieta rica en grasas [dieta para roedores con el 60 % de las calorías procedente de las grasas (Research Diets Inc. Cat n.º: D12492)] durante ocho semanas para inducir la obesidad con el modelo murino de resistencia a la insulina. Después, Los ratones en ayunas recibieron 2 mg/g de peso corporal de glucosa (n = 10) o 2 mg/g de peso corporal de glucosa más Diapin (1 mg/g de peso corporal, n = 10) por sonda. Se midieron los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa y del Diapin.

Como se muestra en la Figura 24, El Diapin inhibe el aumento de la glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones diabéticos inducidos con una dieta rica en grasas.

20 Ejemplo 14

Glicina-Glicina-D-Leucina (D-Diapin) tiene un efecto extendido sobre la disminución del nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J tras la administración oral de glucosa.

25 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron 2 mg/g de peso corporal de glucosa (n = 10) o 2 mg/g de peso corporal de glucosa más D-Diapin (1 mg/g de peso corporal, n = 10) o Diapin (1 mg/g de peso corporal, n = 10) por sonda. Se midieron los niveles de glucosa en sangre a los 30, 60, 90, 120 y 180 minutos después de la administración de la glucosa.

30 Como se muestra en la Figura 25, el D-Diapin es más efectivo que el Diapin en la reducción de los niveles de glucosa en sangre tras la carga oral de glucosa en ratones C57BL/6J.

Ejemplo 15

35 El Diapin reduce el nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J después de la administración oral de glucosa y la administración ip de Diapin.

40 El experimento se realizó en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron 2 mg/g de peso corporal de glucosa (n = 14) o 2 mg/g de peso corporal de glucosa más Diapin (1 mg/g de peso corporal, ip, n = 14) o Diapin (1 mg/g de peso corporal, n = 14) por sonda. Se midió la glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa y del Diapin. Los resultados se muestran en la Figura 26.

45 Ejemplo 16

Los dipéptidos modificados tuvieron diferentes efectos sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones C57BL/6J tras la administración oral de glucosa. Los dipéptidos modificados ensayados fueron un dipéptido GL amidado y el isómero D del dipéptido LG.

50 Se realizó un experimento en ratones C57BL/6J macho adultos adquiridos en Jackson Lab. Los ratones en ayunas recibieron 2 mg/g de peso corporal de glucosa (n = 12) o 2 mg/g de peso corporal de glucosa más Diapin (1 mg/g de peso corporal, ip, n = 12) o dipéptido (0,67mg/g de peso corporal, n = 12) por sonda. Se midió la glucosa en sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de la glucosa y del péptido. Los resultados se muestran en la Figura 27.

55

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, GLL, LGL, LLG, LGG, GGdL, GdLG, GdLL, GLdL, GdLdL, dLLG, LdLG, dLdLG, dLGG, dLGL, LGdL, dLGdL, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que el péptido puede estar acilado, amidado o acilado y amidado, para su uso en el tratamiento de la prediabetes, la diabetes, la obesidad, la hipertensión arterial, el síndrome metabólico, el control glucémico deficiente o la secreción reducida de insulina; o para su uso en la prevención, la reducción o la mejora de una complicación asociada a la diabetes en un paciente diabético.
- 10 2. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que al menos un péptido está acilado en el extremo N.
- 15 3. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que al menos un péptido está amidado en el extremo C.
- 20 4. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG, GLL, LGL, LLG o LGG, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- 25 5. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLG o GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- 30 6. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GLL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 35 7. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGdL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 40 8. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, en la que el péptido está acilado en el extremo N y amidado en el extremo C, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 45 9. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos LLG, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 50 10. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos LdLG, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 55 11. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos LGL, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 60 12. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GLG, o una sal farmacéuticamente aceptable del péptido.
- 65 13. Una composición para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la afección es la diabetes.
14. Una composición para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la complicación asociada a la diabetes es una enfermedad cardiovascular, nefropatía crónica, insuficiencia renal, problemas de vejiga, disfunción eréctil, gastroparesis, una enfermedad ocular, una neuropatía diabética, úlceras en el pie o en la piel, o amputación de extremidades inferiores.
15. Una composición para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en el que la composición se administra por vía oral, intraperitoneal, ocular, intradérmica, intranasal, subcutánea, intramuscular o intravenosa.
16. Una composición farmacéutica oral que comprende al menos un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos GGL, GLL, GGdL, GdLL, GLdL, GdLdL o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que el péptido puede estar acilado, amidado o acilado y amidado, y en la que el único principio activo del producto en la composición es el péptido o los péptidos.
17. La composición farmacéutica oral de acuerdo con la reivindicación 16, en la que al menos un péptido es GGL o GGdL acetilado en el extremo N.
18. La composición farmacéutica oral de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en la que al menos un péptido es GGL o GGdL amidado en el extremo C.

19. La composición farmacéutica oral de acuerdo con la reivindicación 16, en la que al menos un péptido es GGL, GLL o GGdL, GdLL, GLdL, GdLdL.

5 20. La composición farmacéutica oral de acuerdo con la reivindicación 16, en la que al menos un péptido es GGL o GGdL.

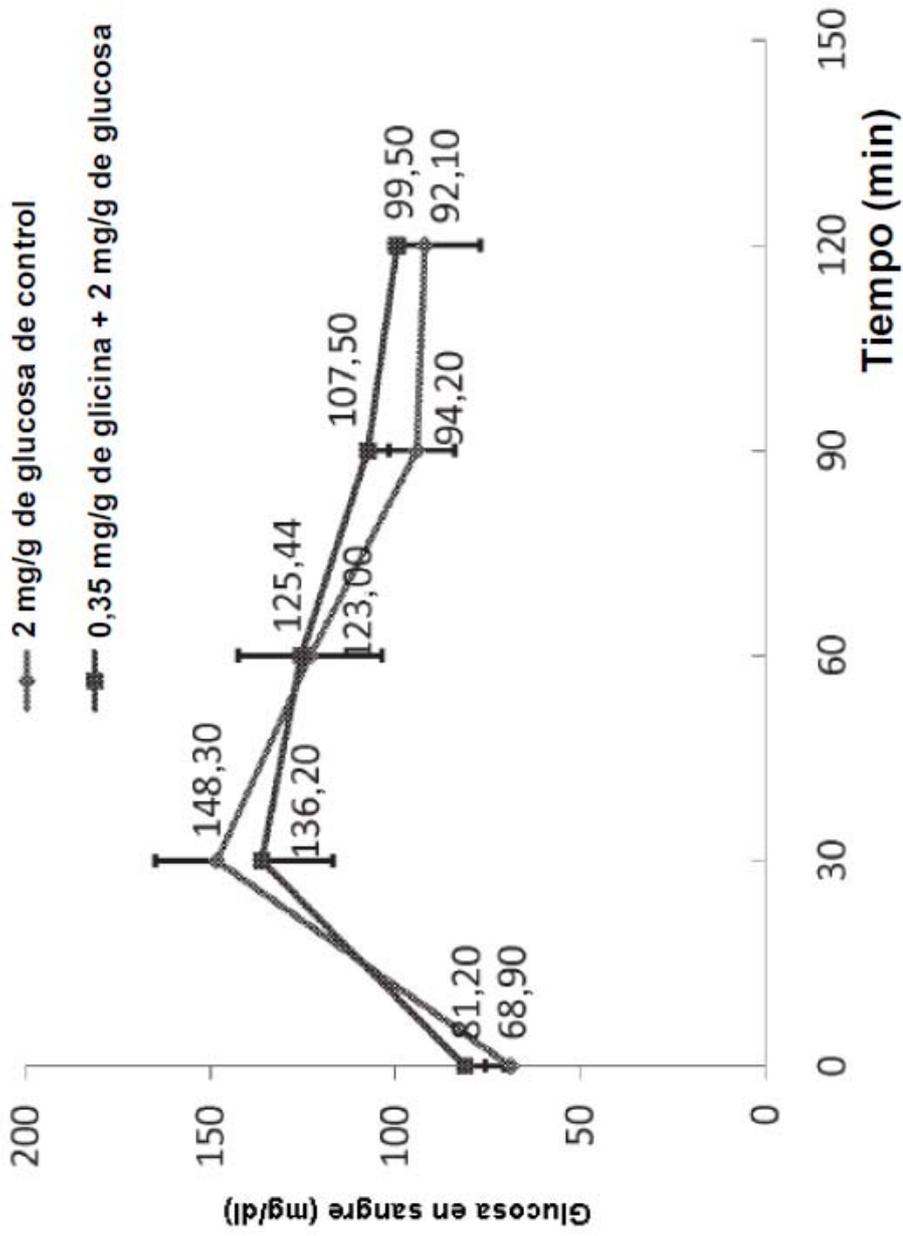


Figura 1

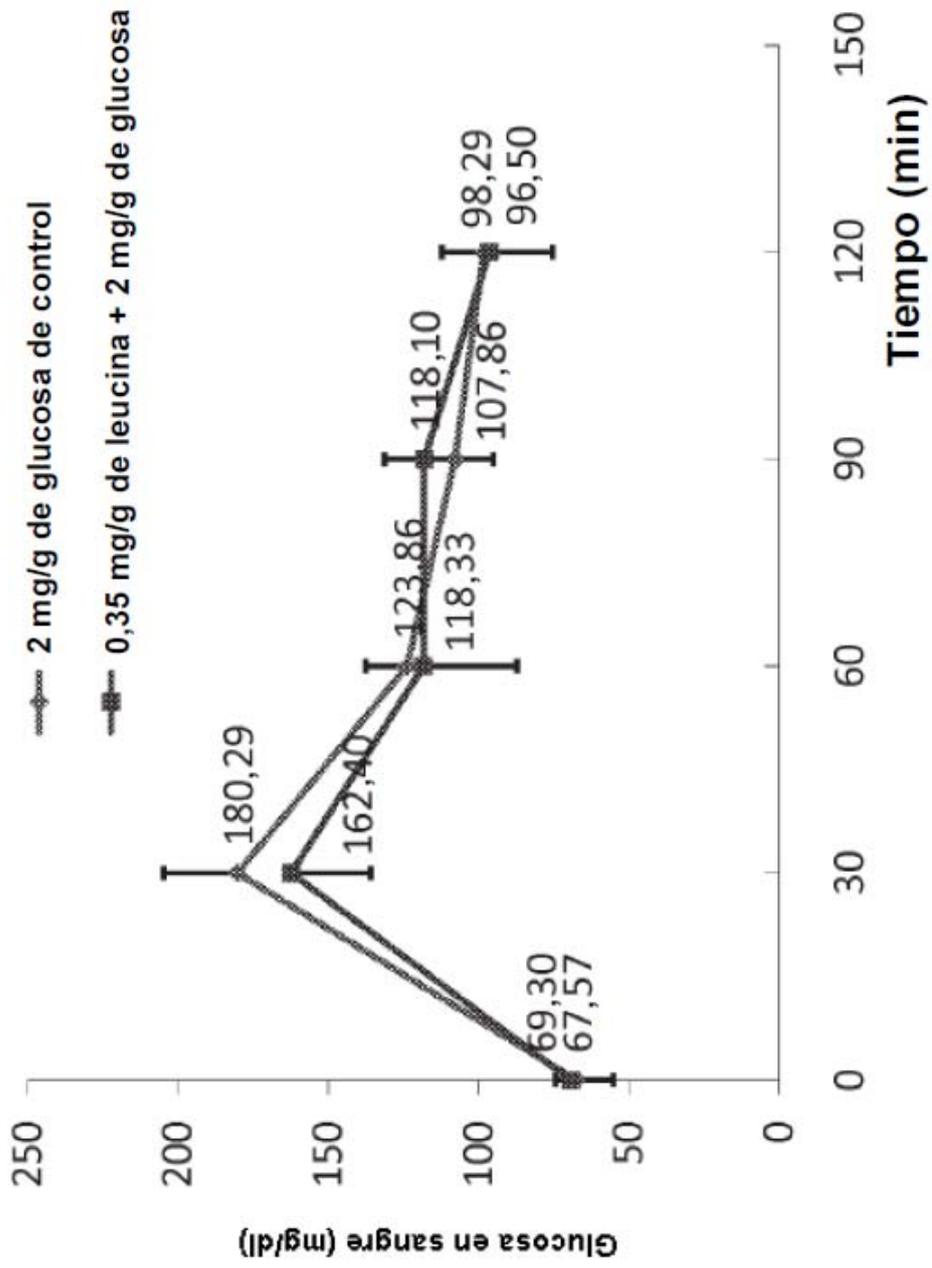


Figura 2

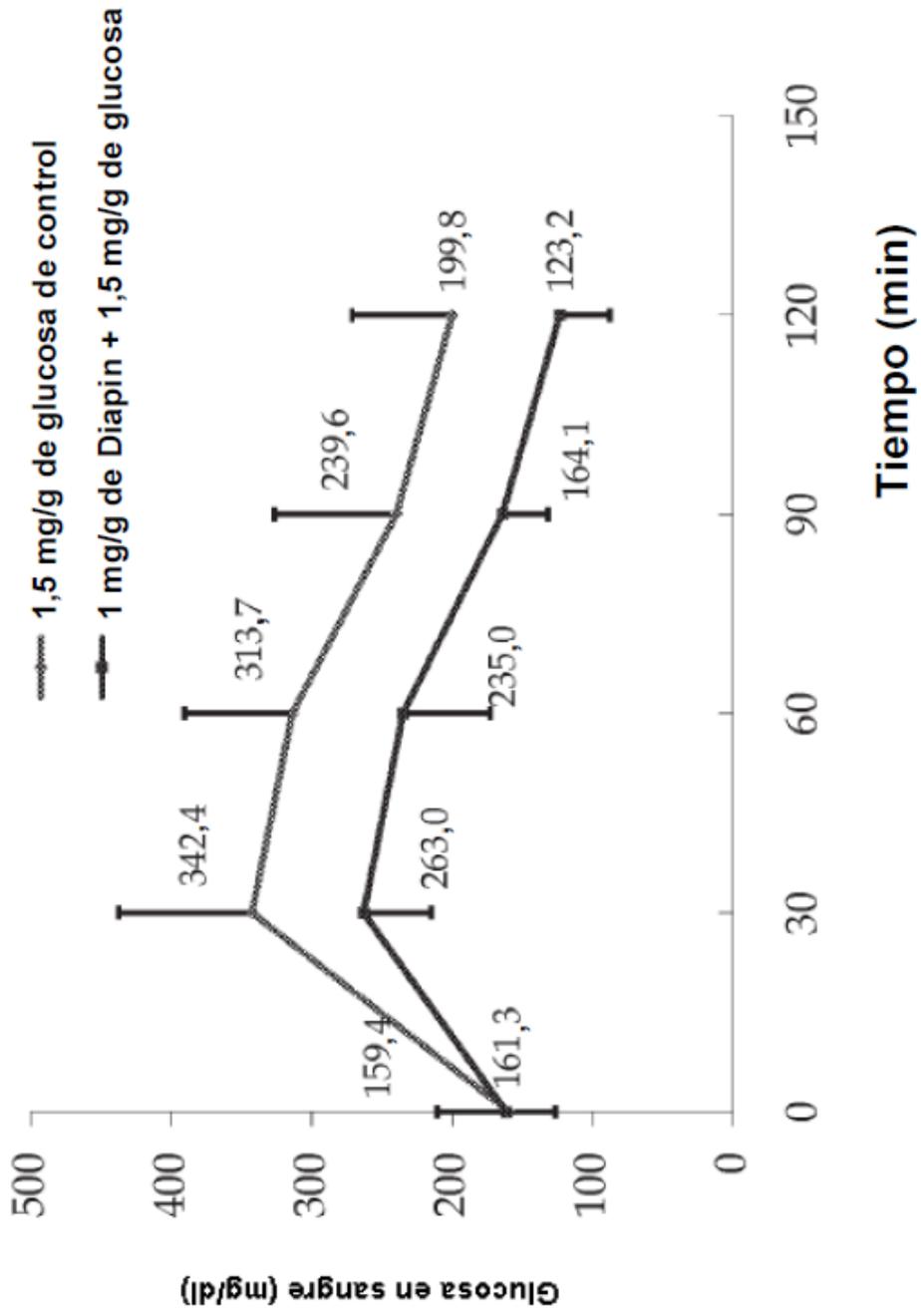


Figura 3

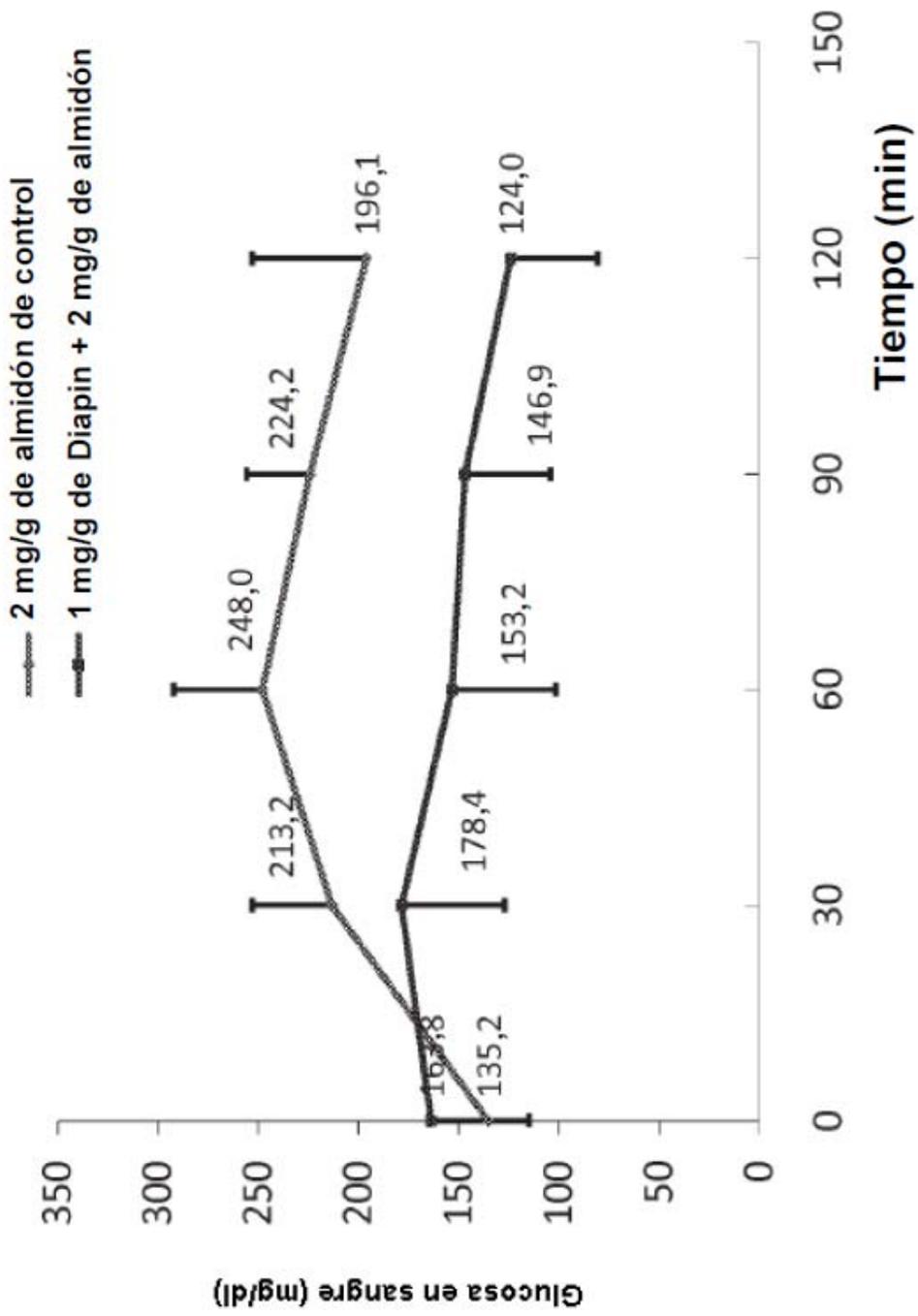


Figura 4

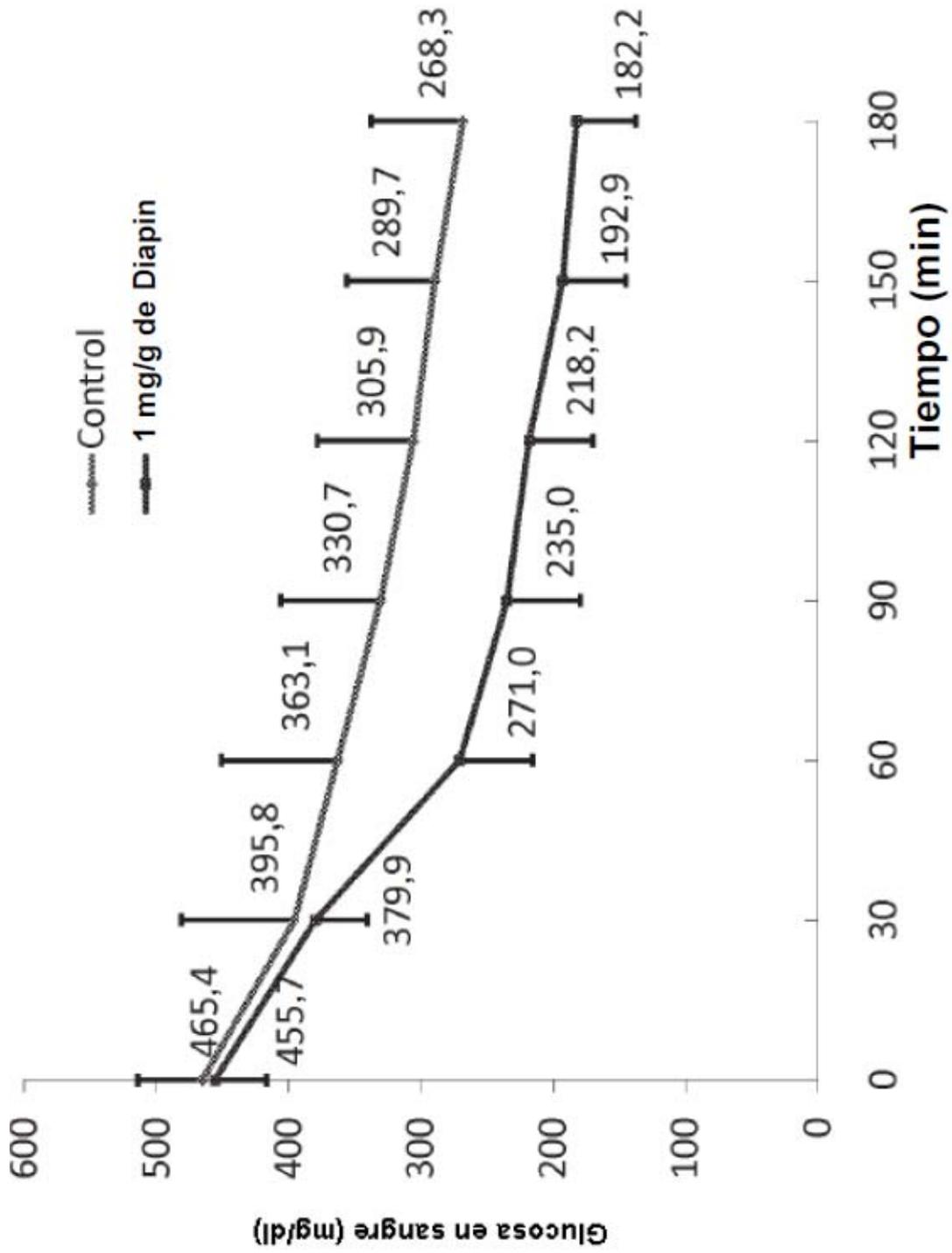


Figura 5

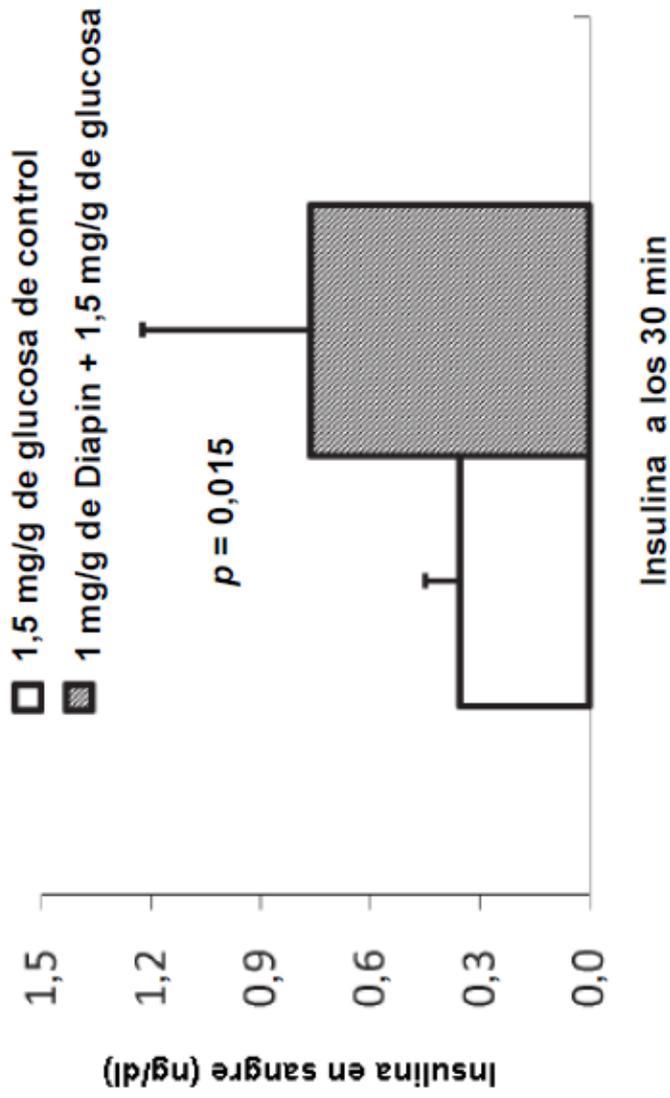


Figura 6

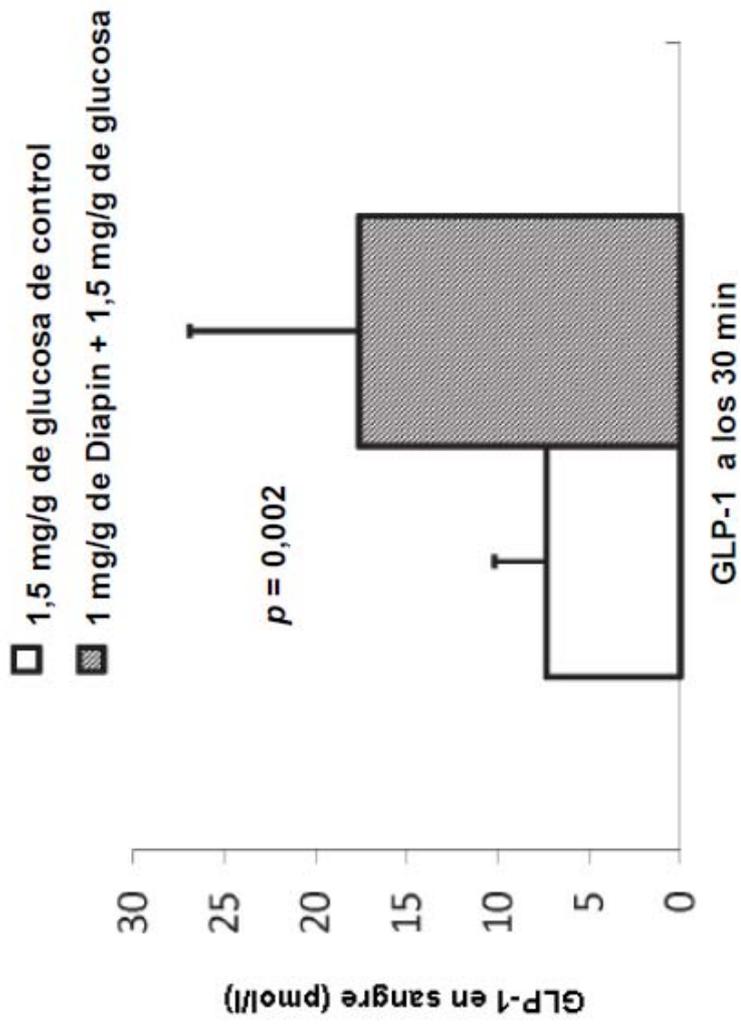


Figura 7

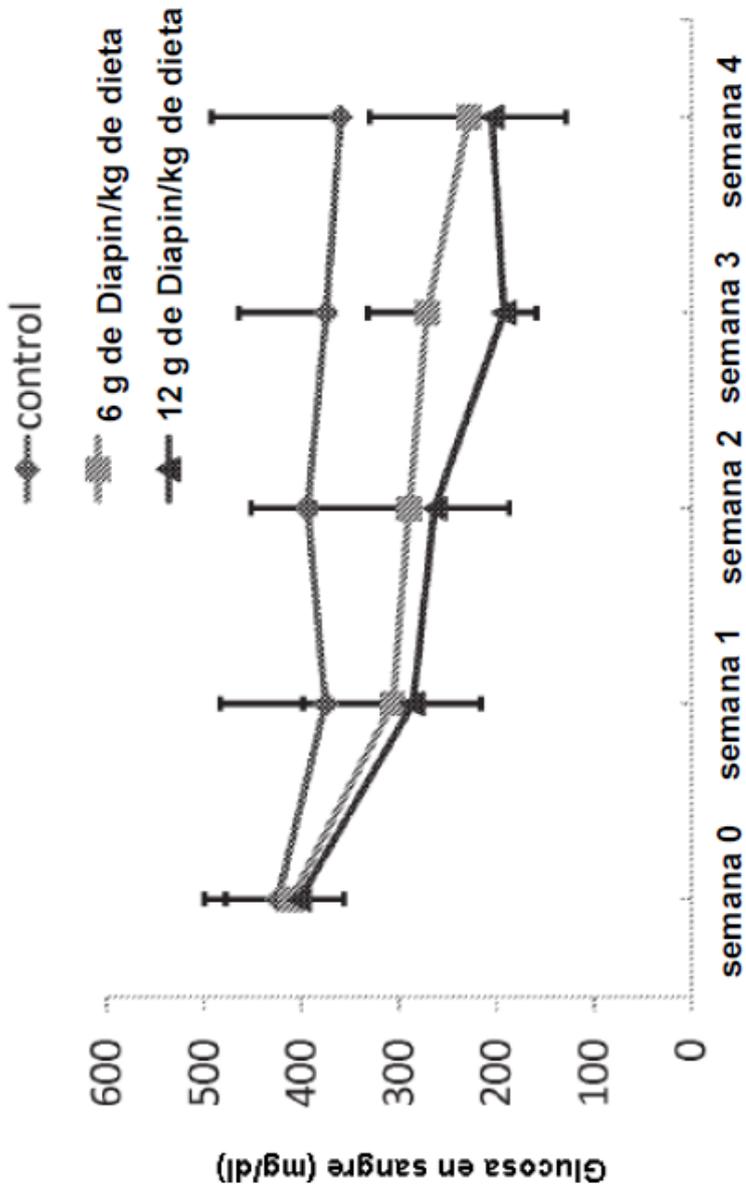


Figura 8

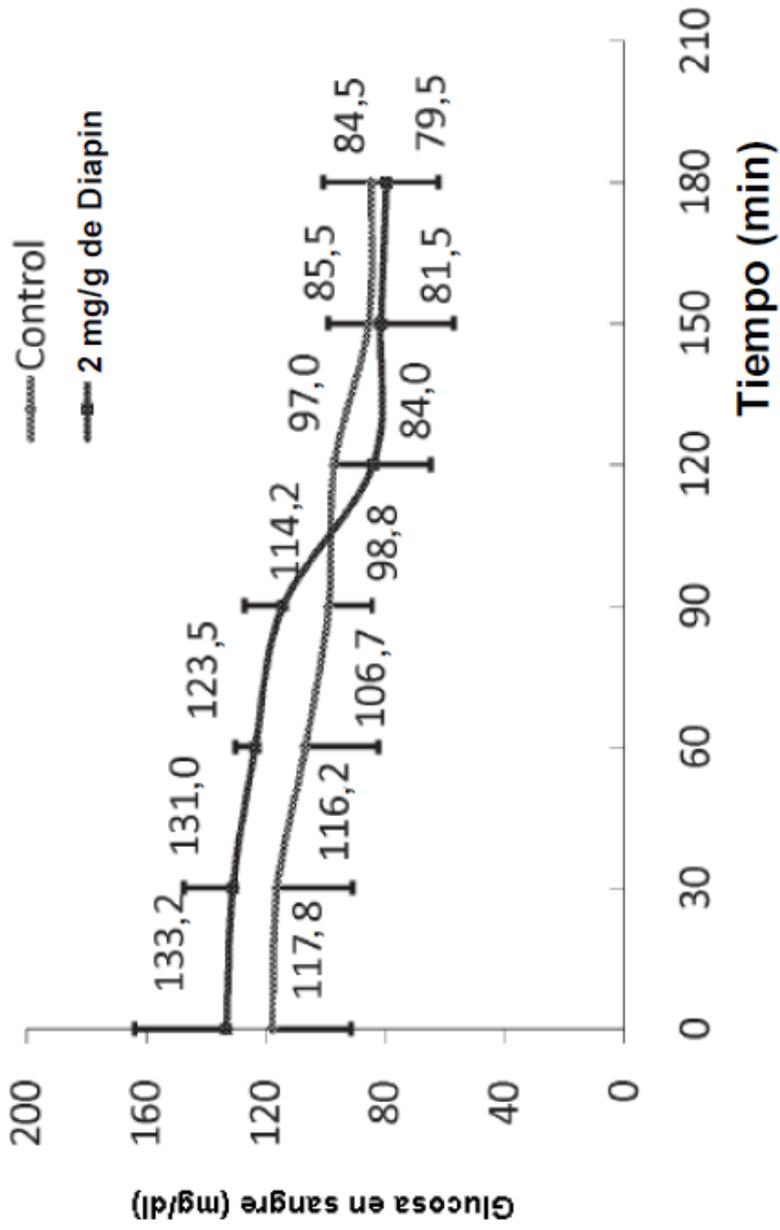


Figura 9

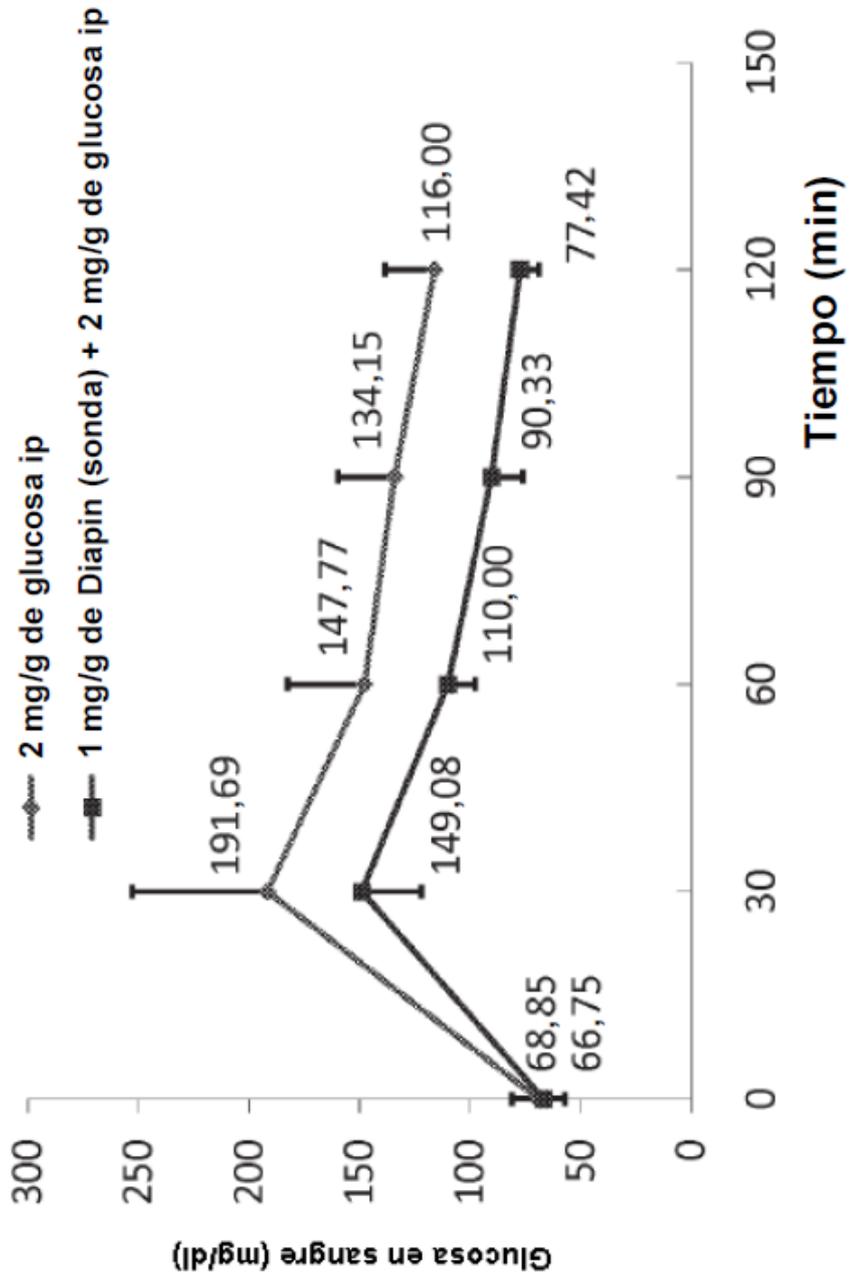


Figura 10

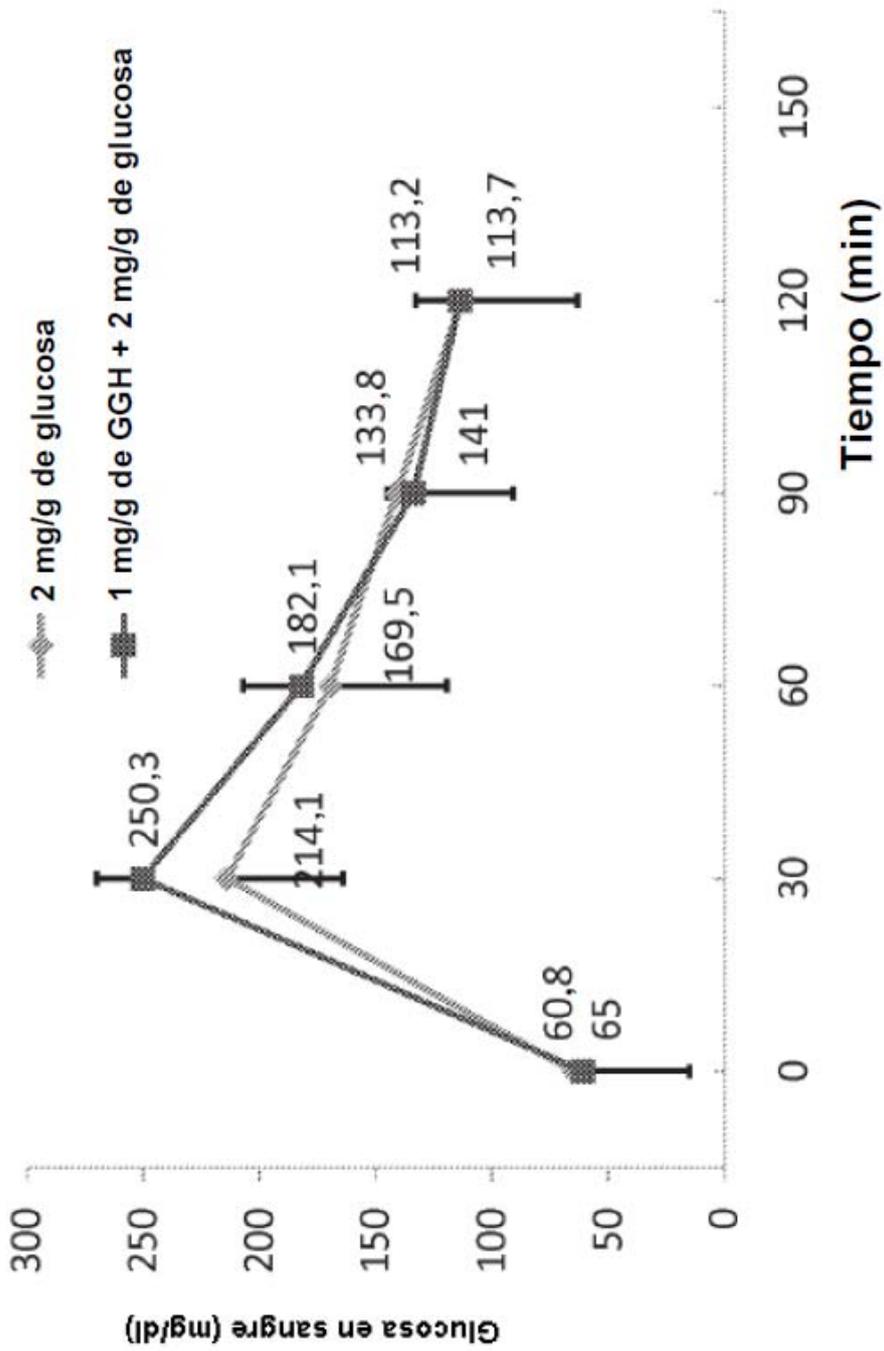


Figura 11

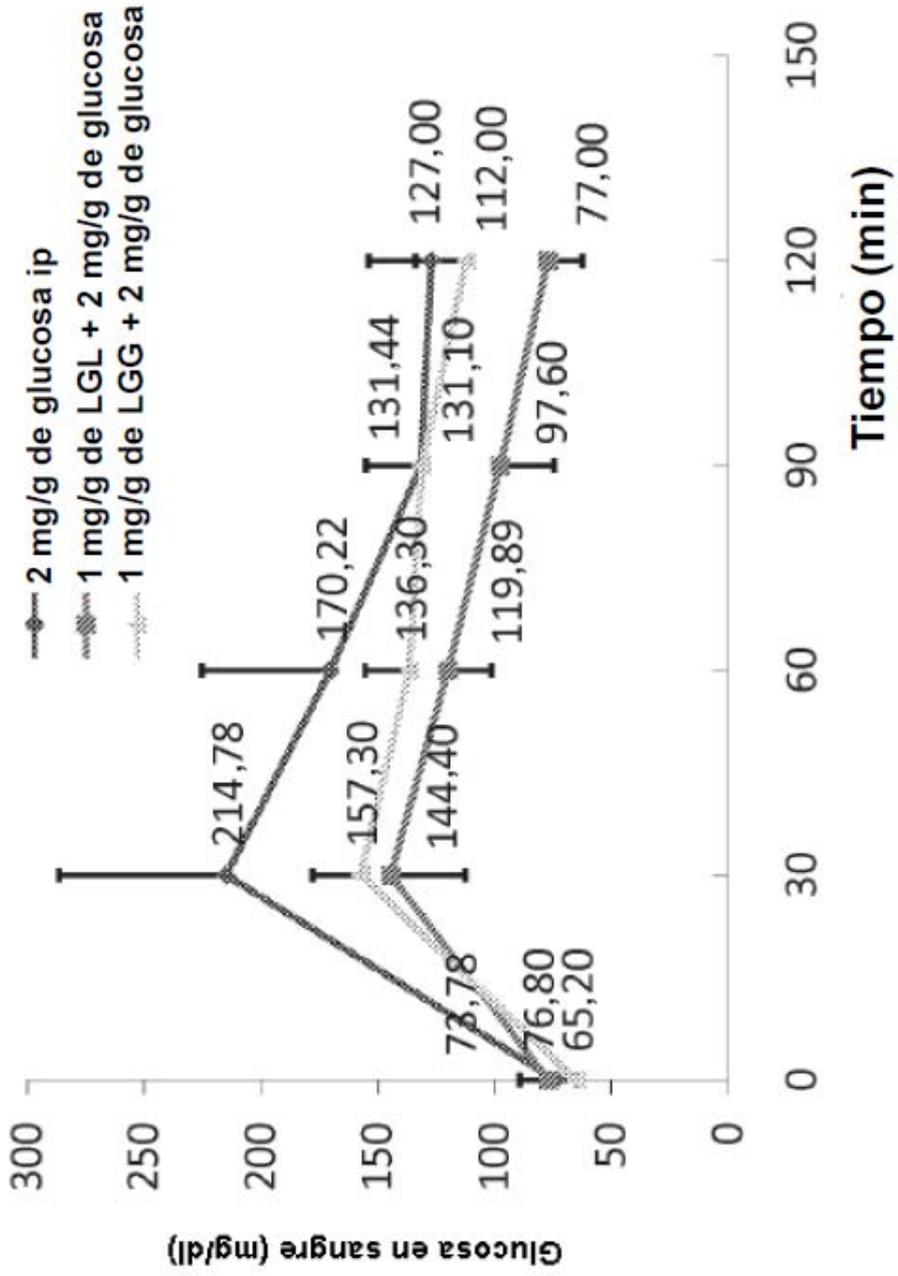


Figura 12

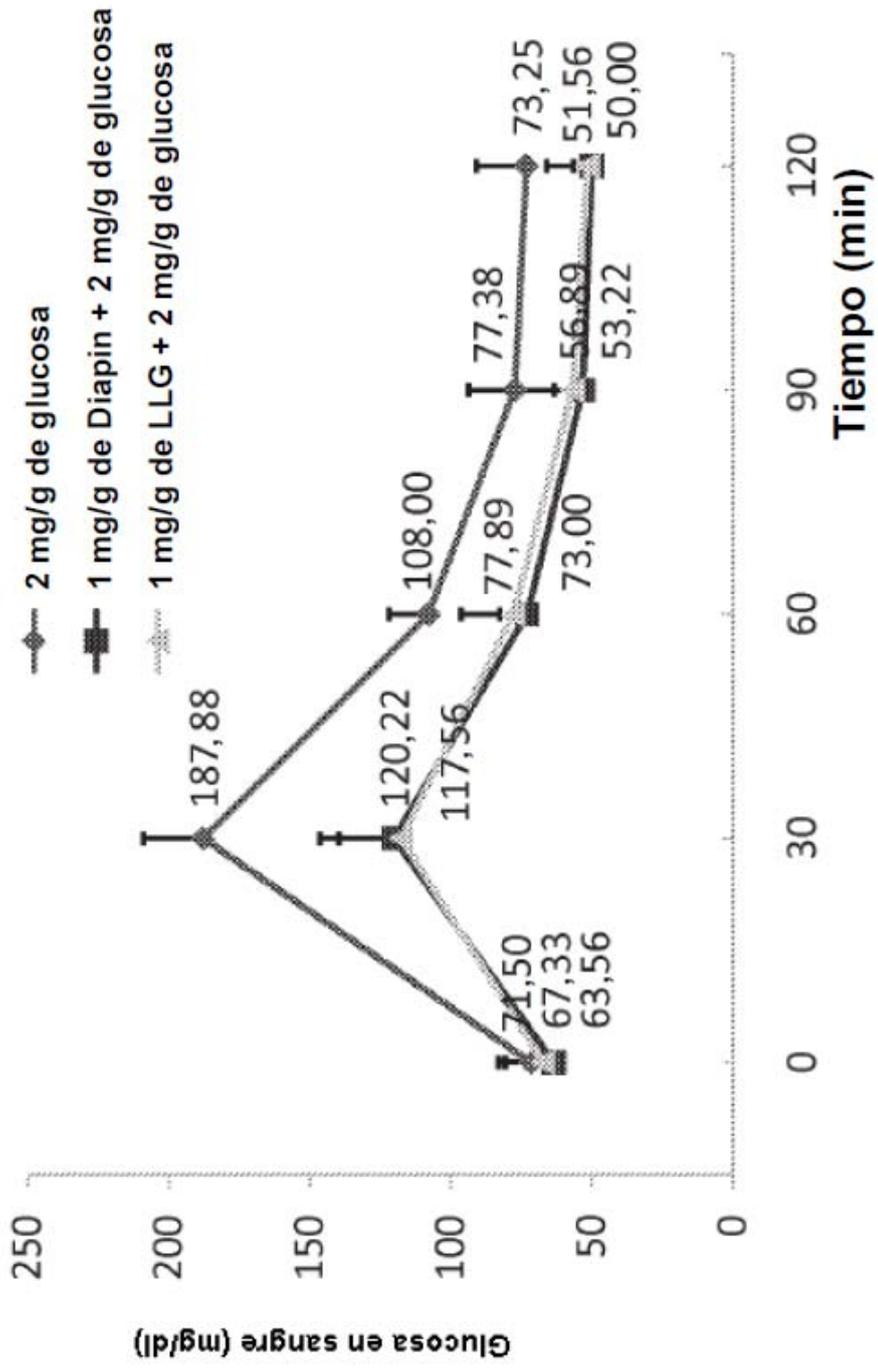


Figura 13

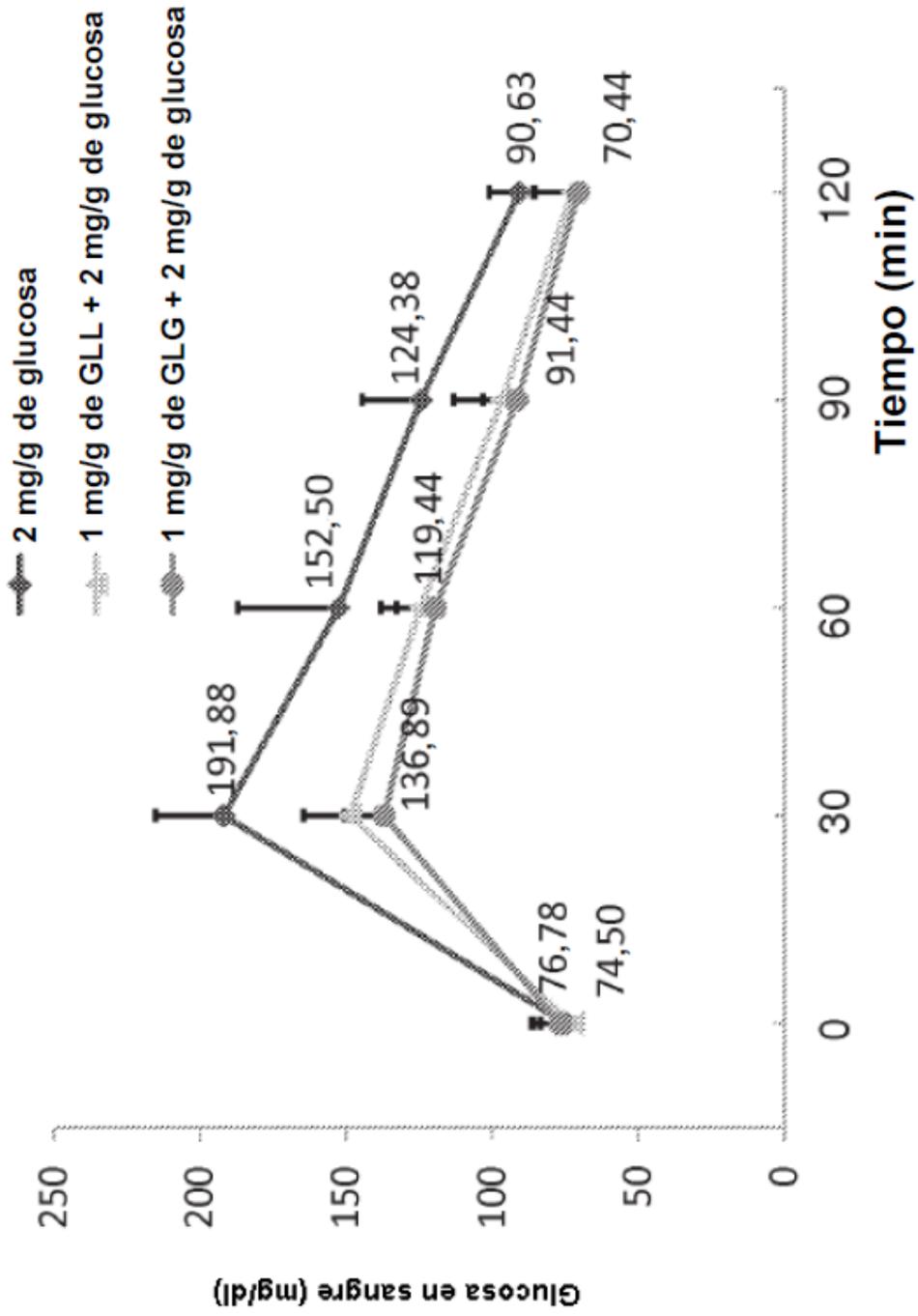


Figura 14

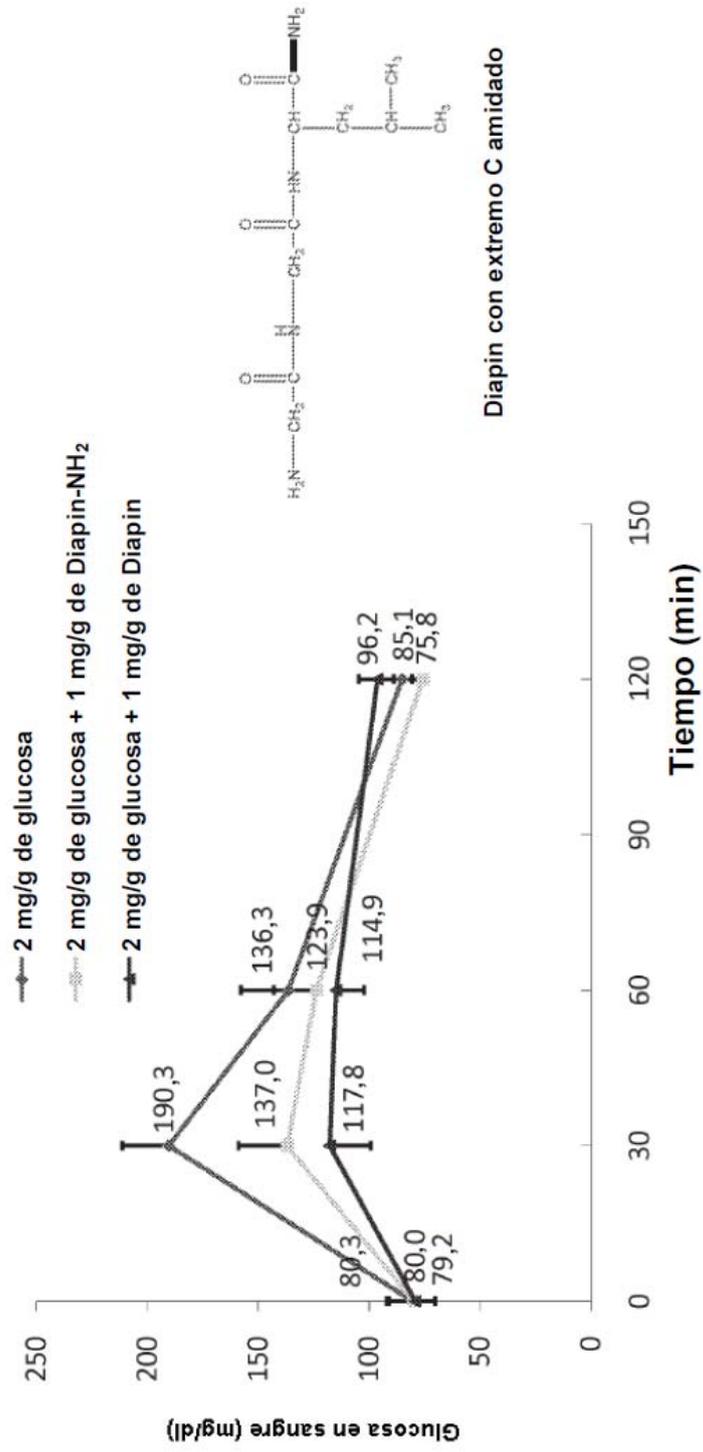


Figura 15

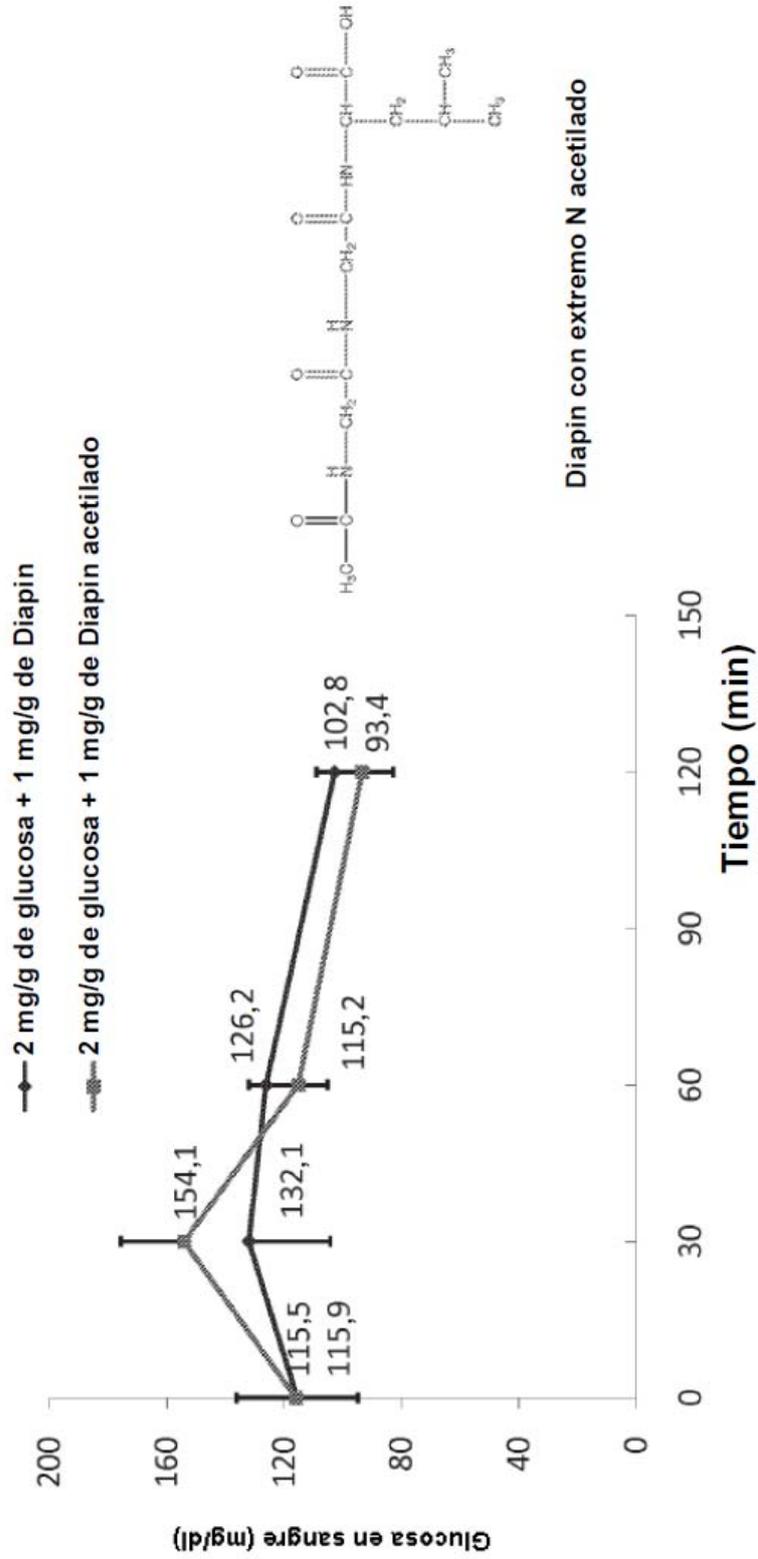


Figura 16

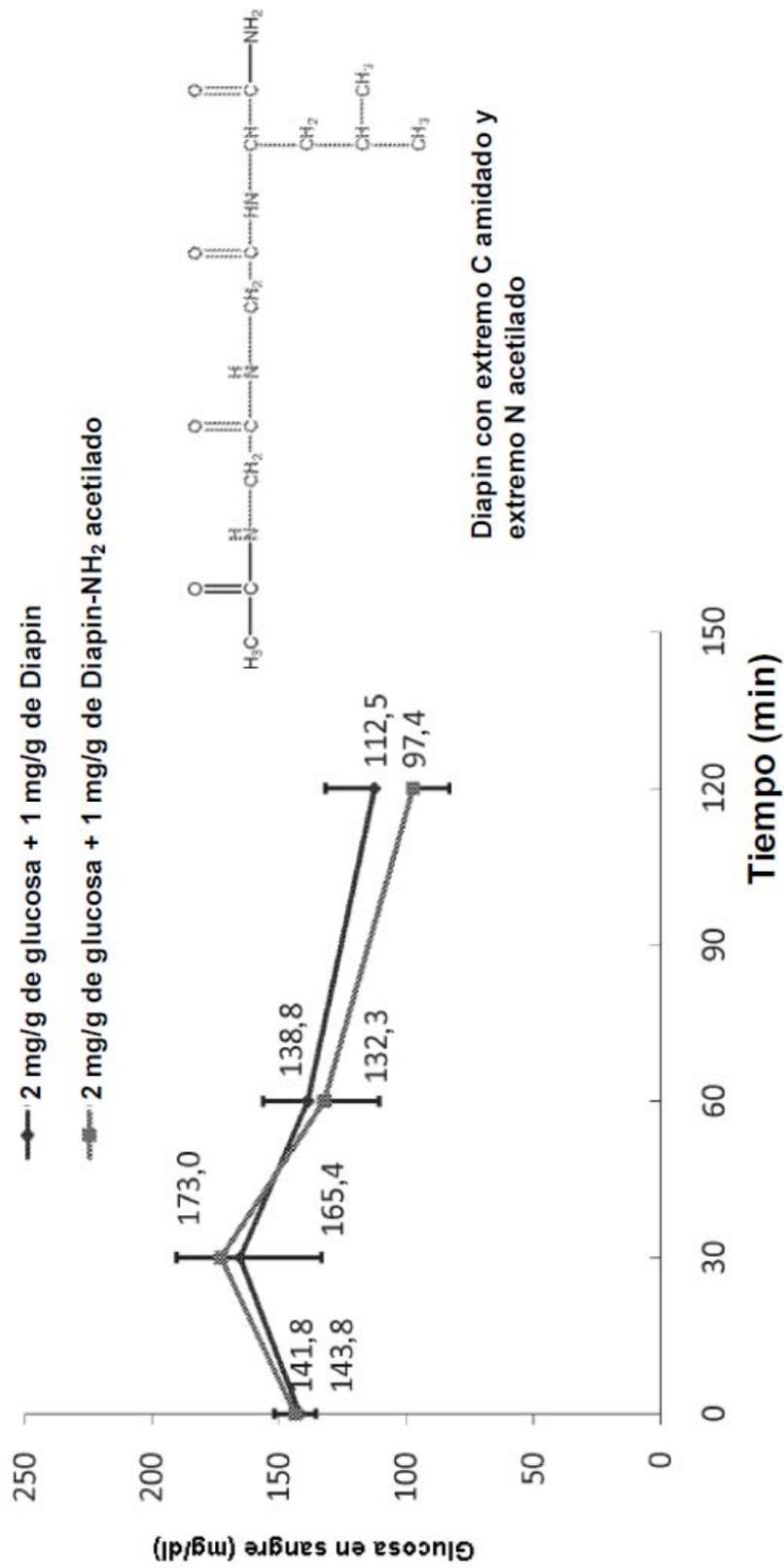


Figura 17

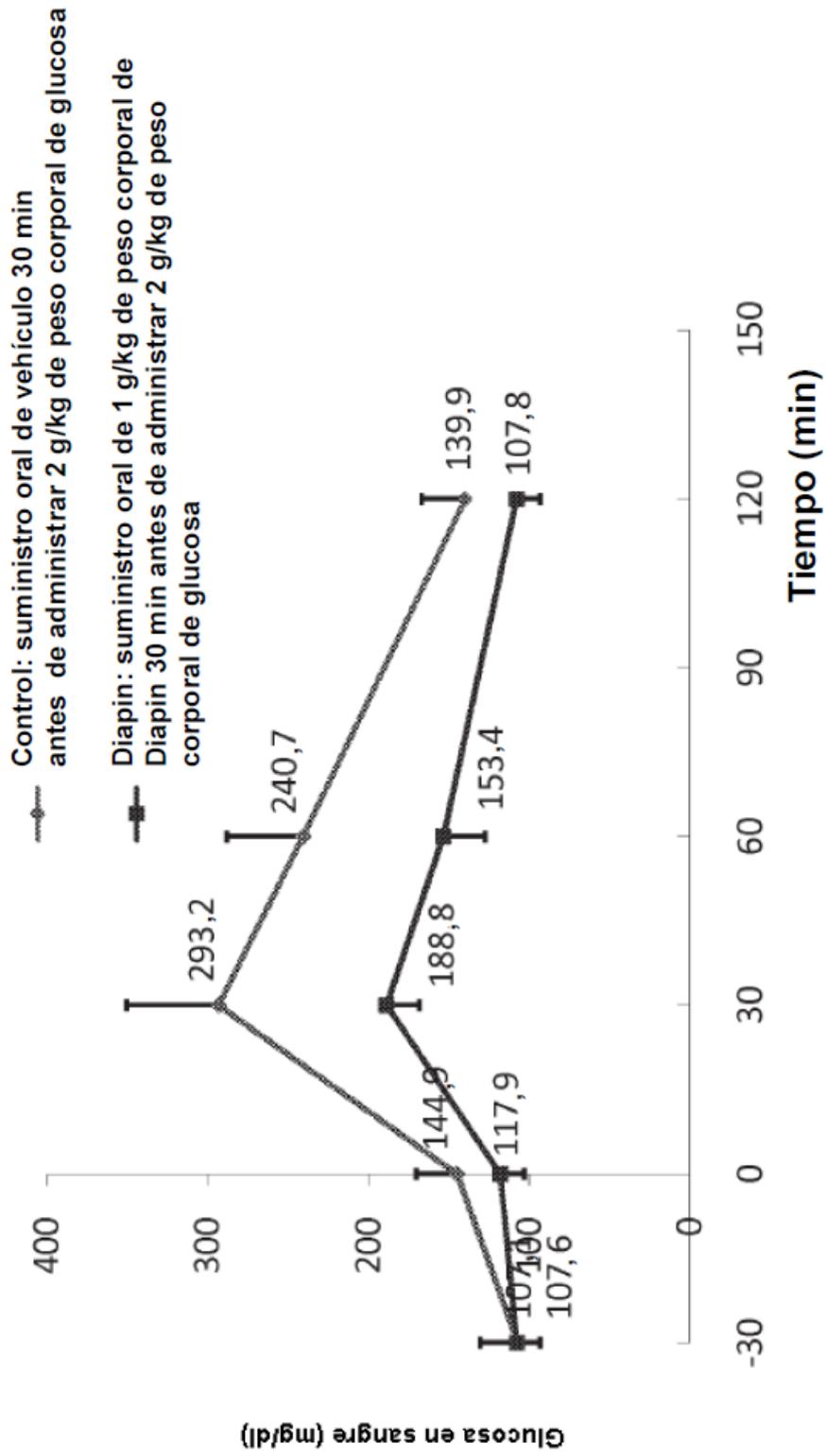


Figura 18

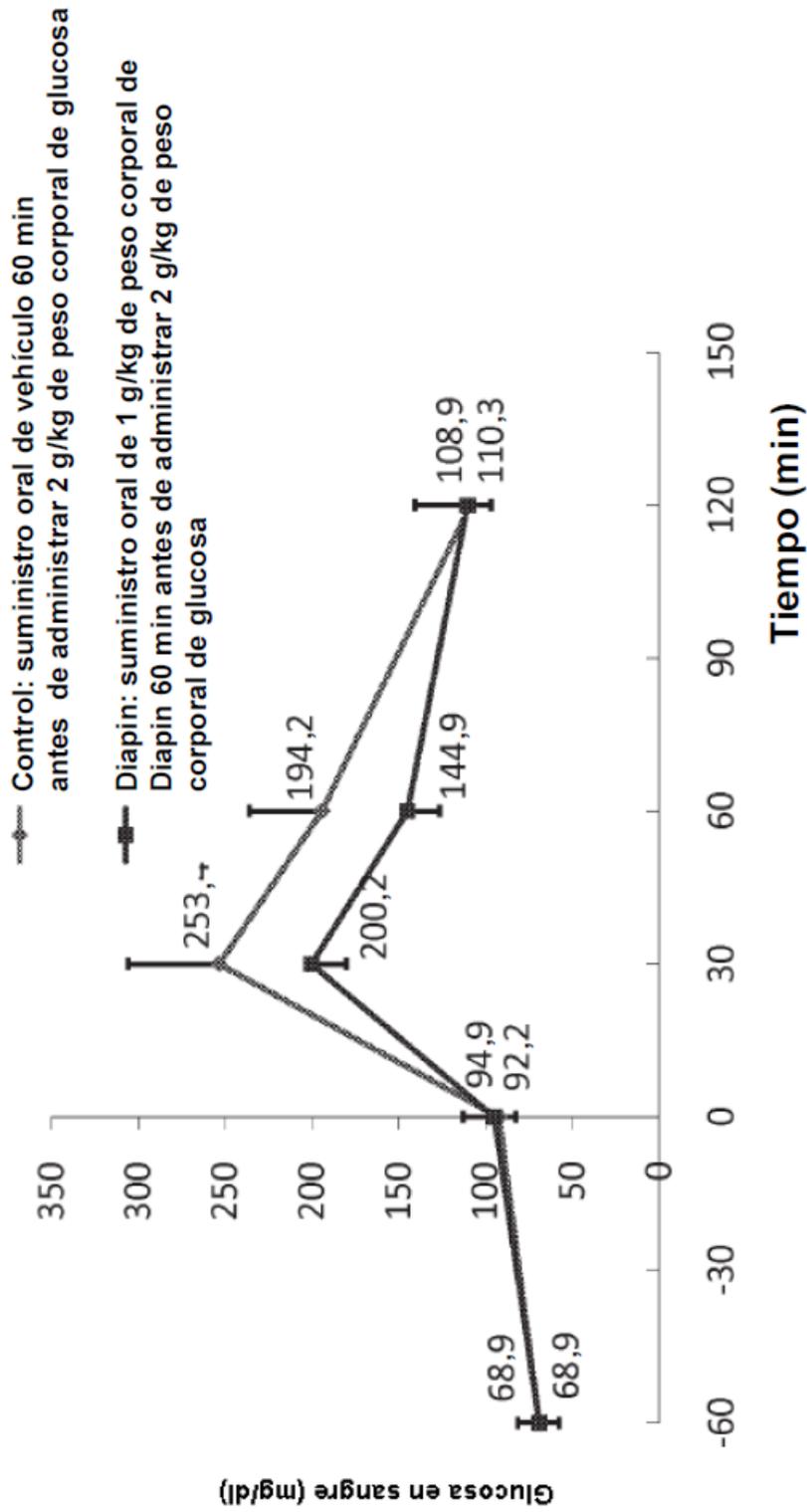


Figura 19

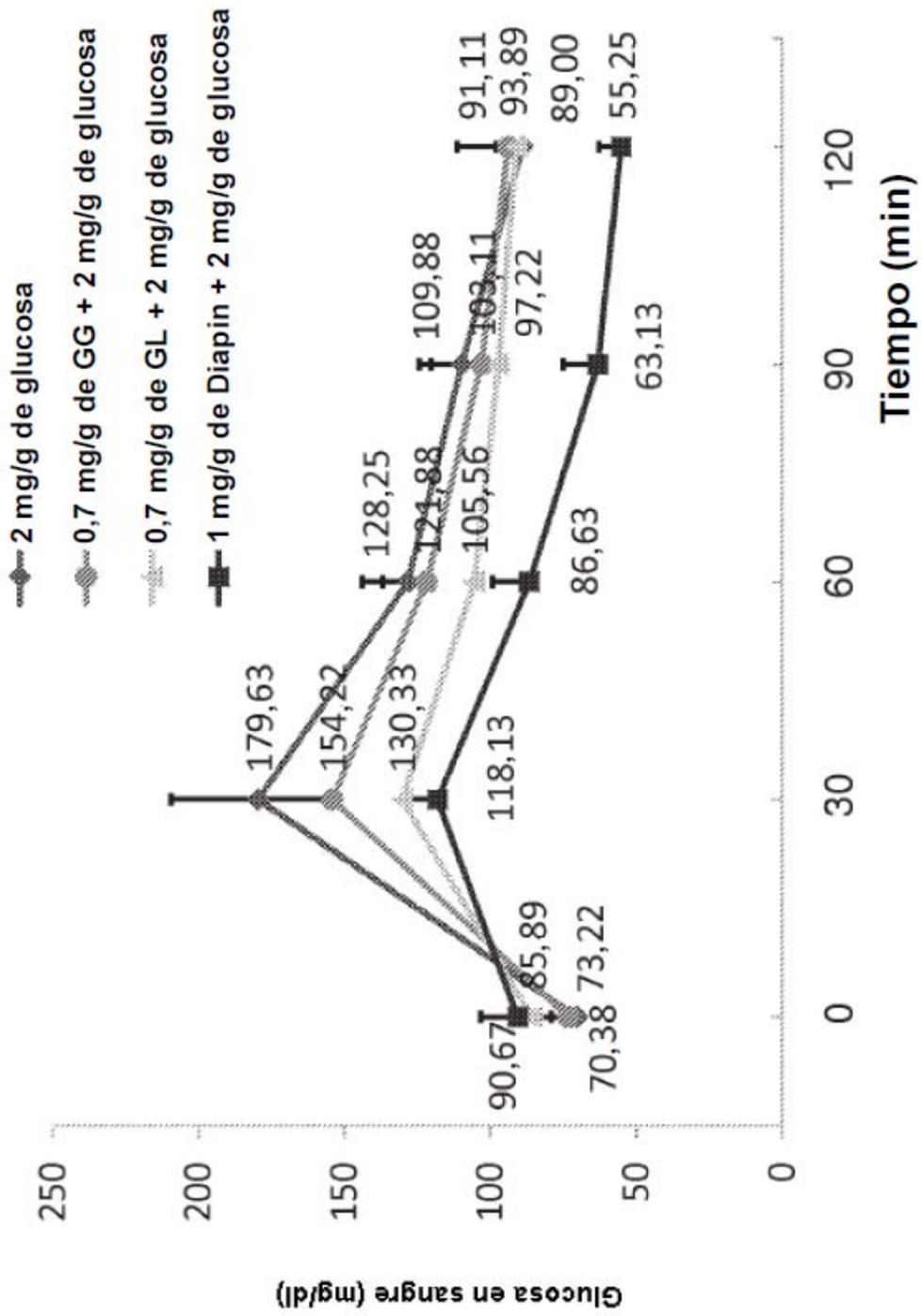


Figura 20

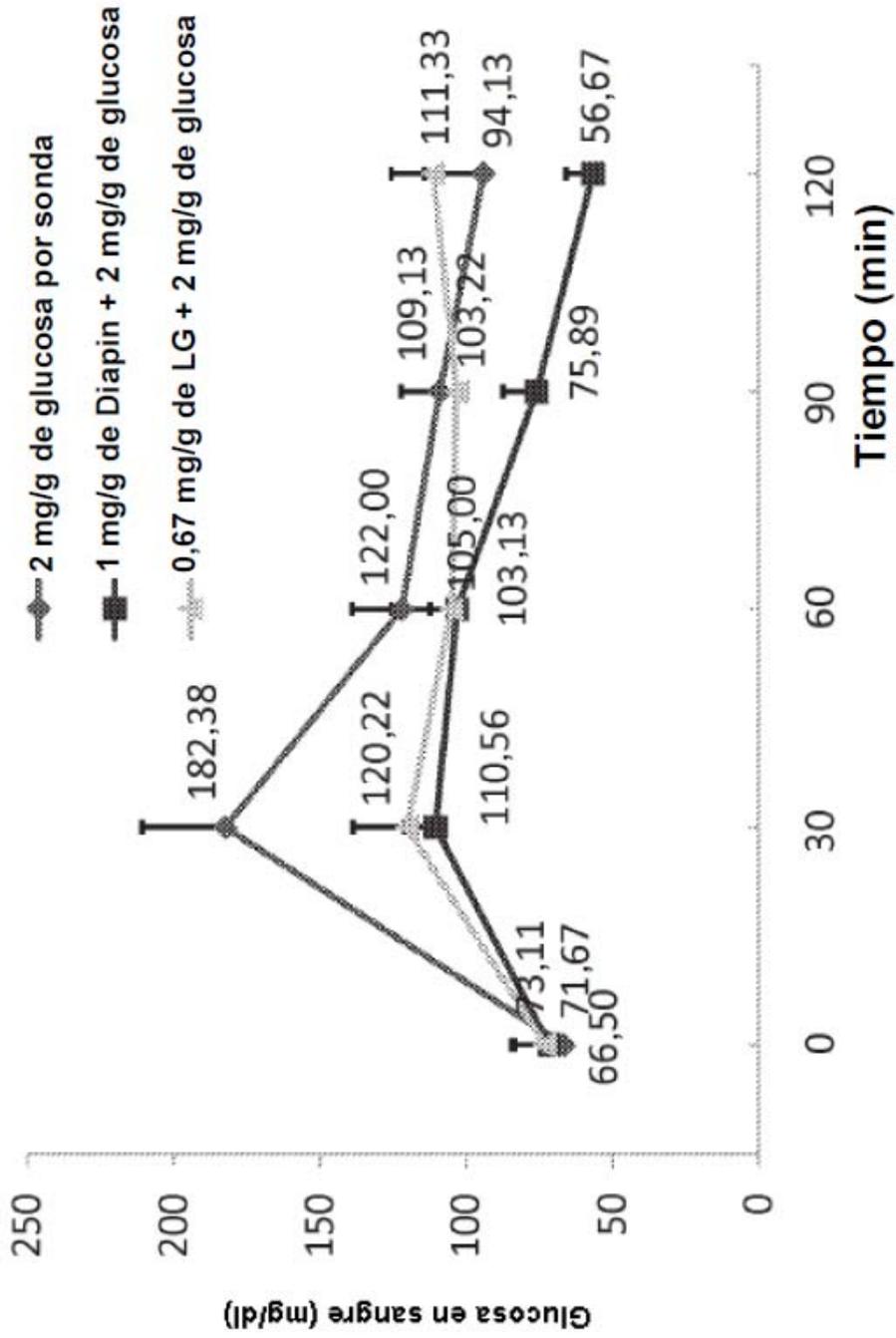


Figura 21

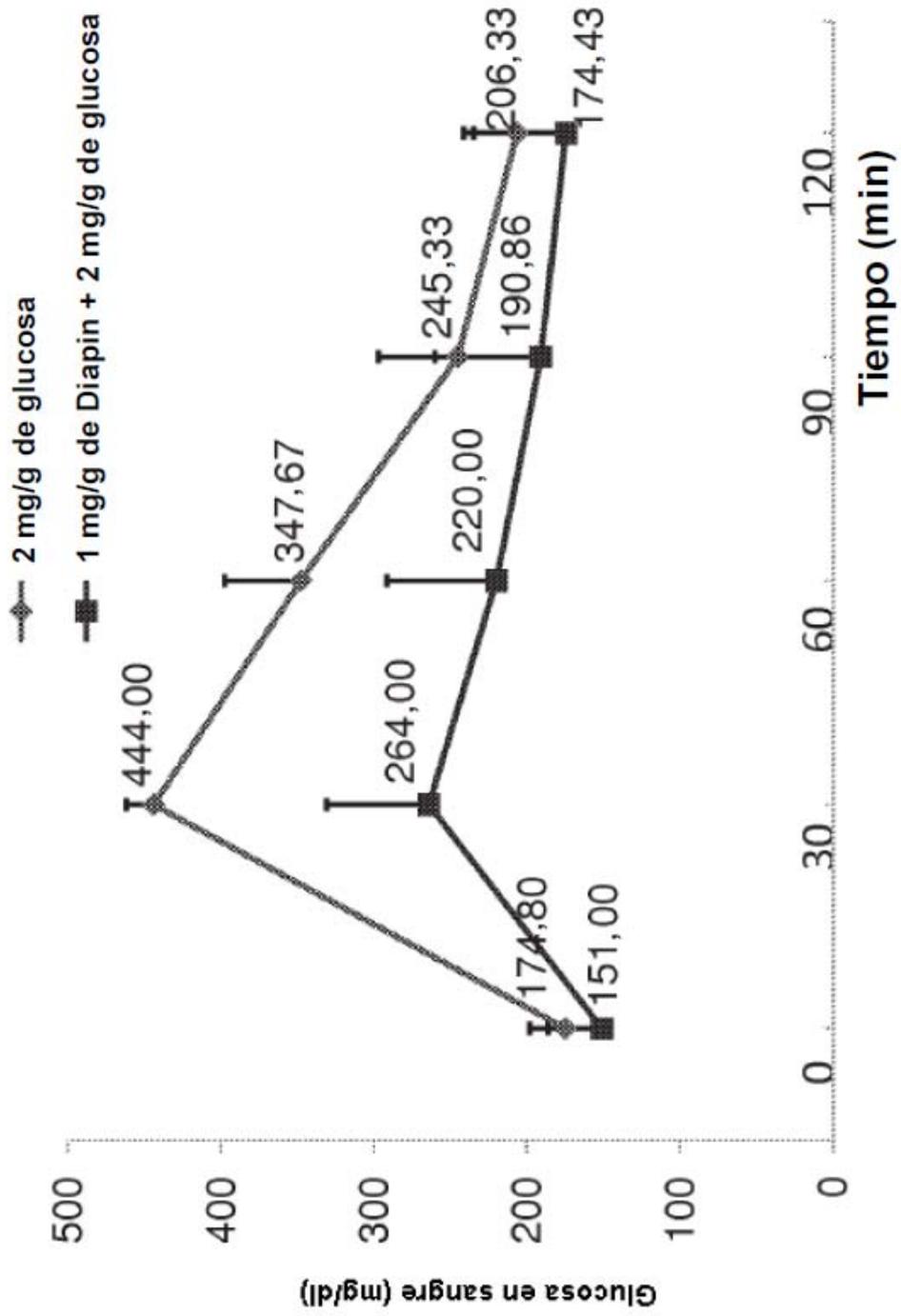


Figura 22

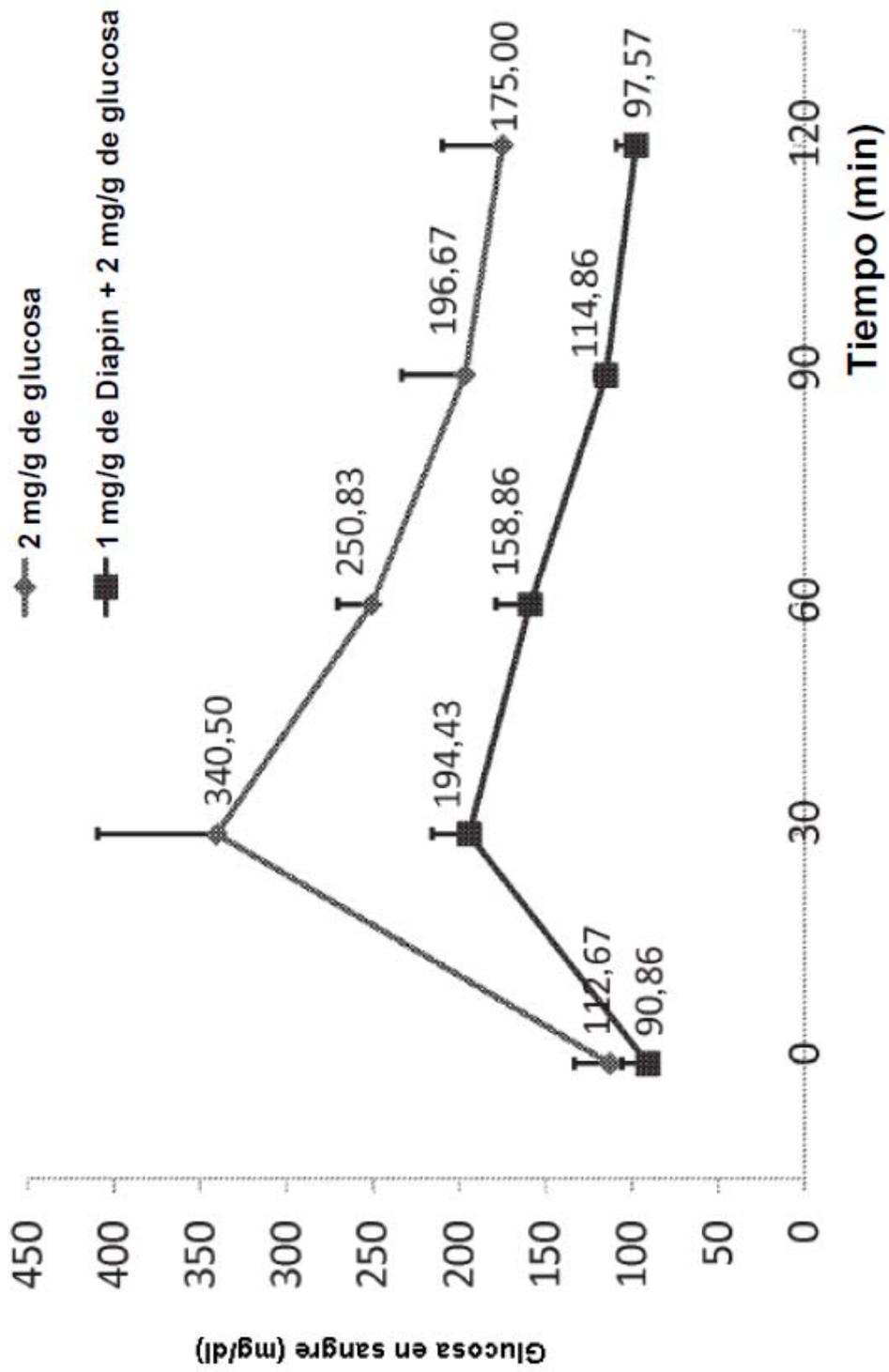


Figura 23

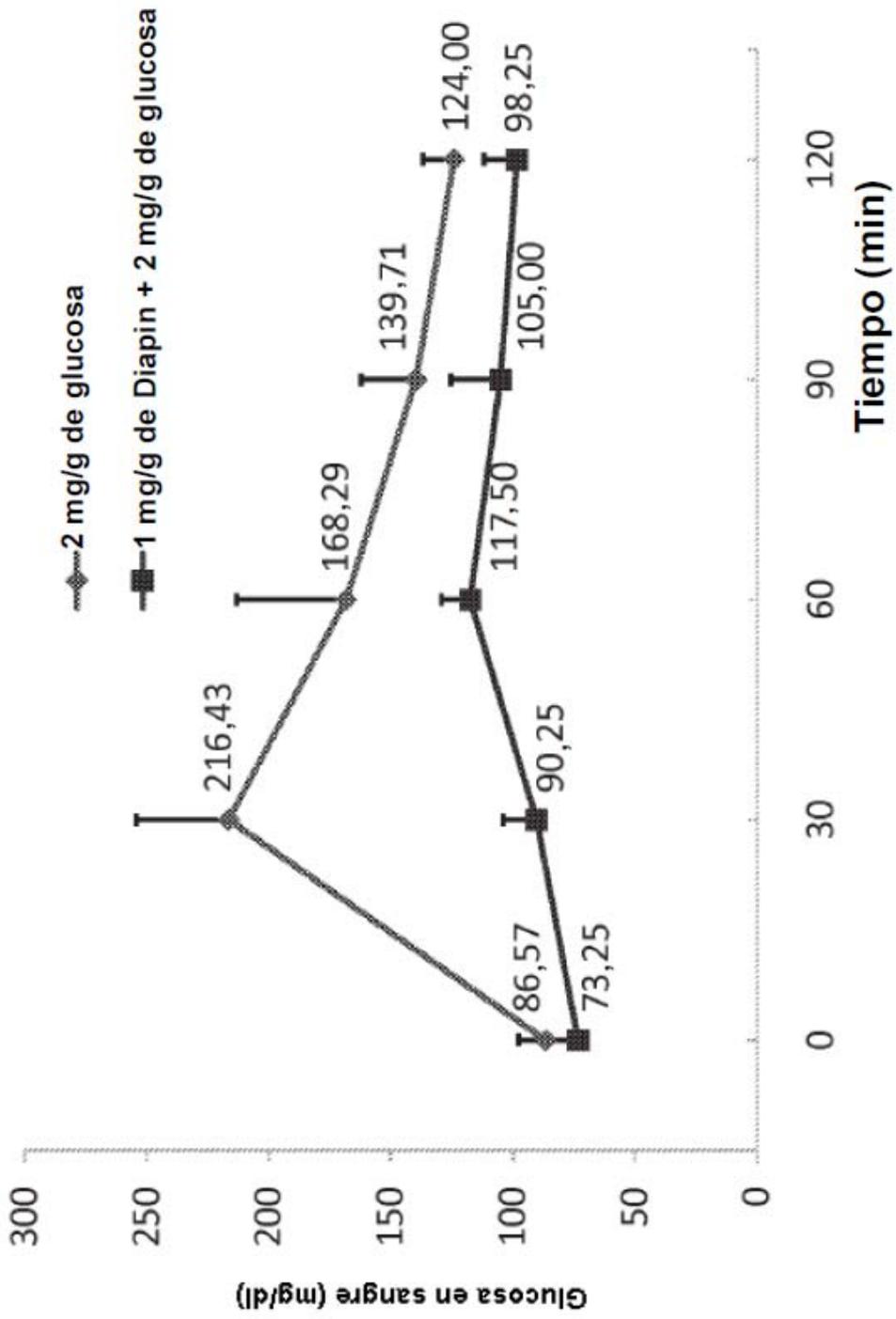


Figura 24

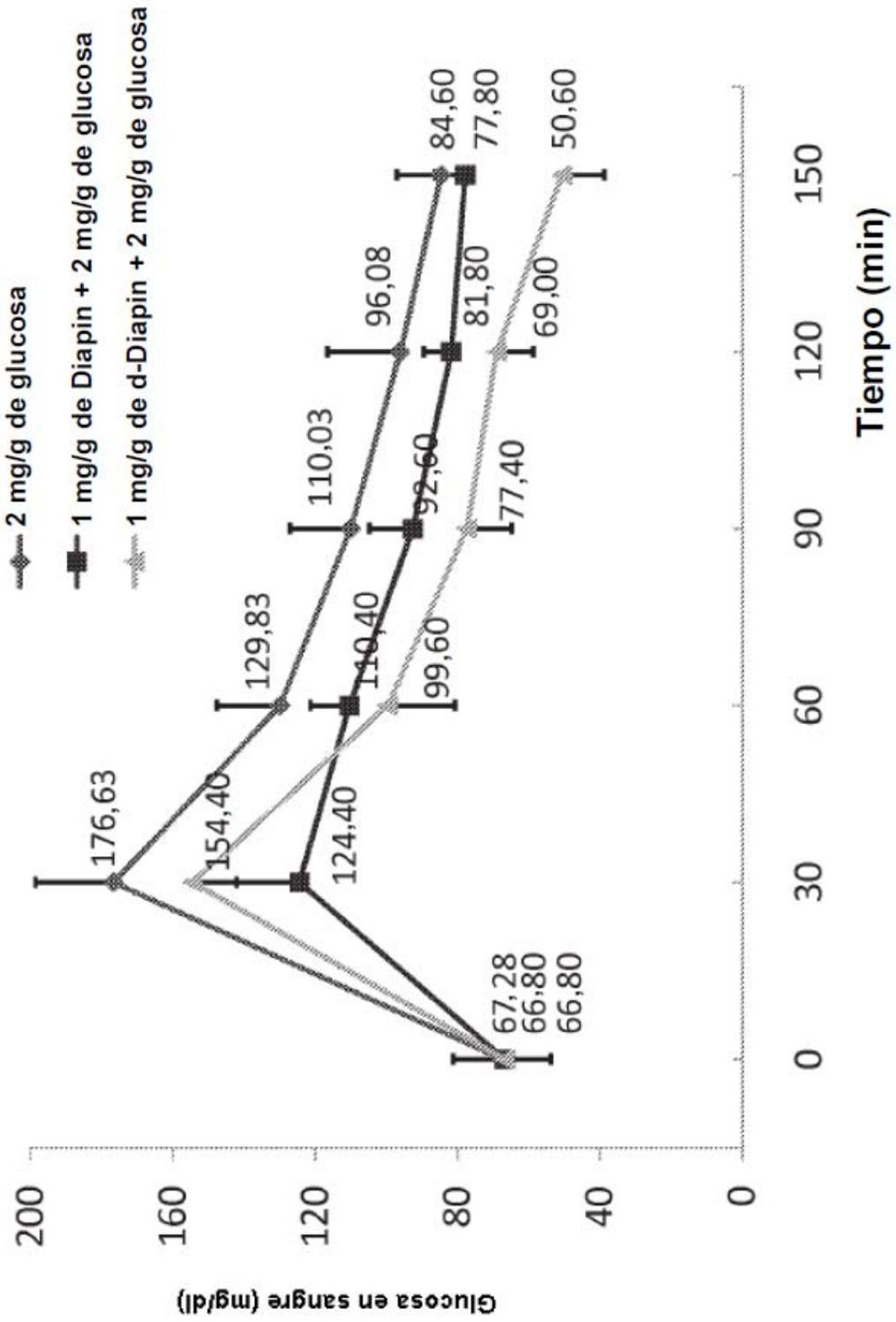


Figura 25

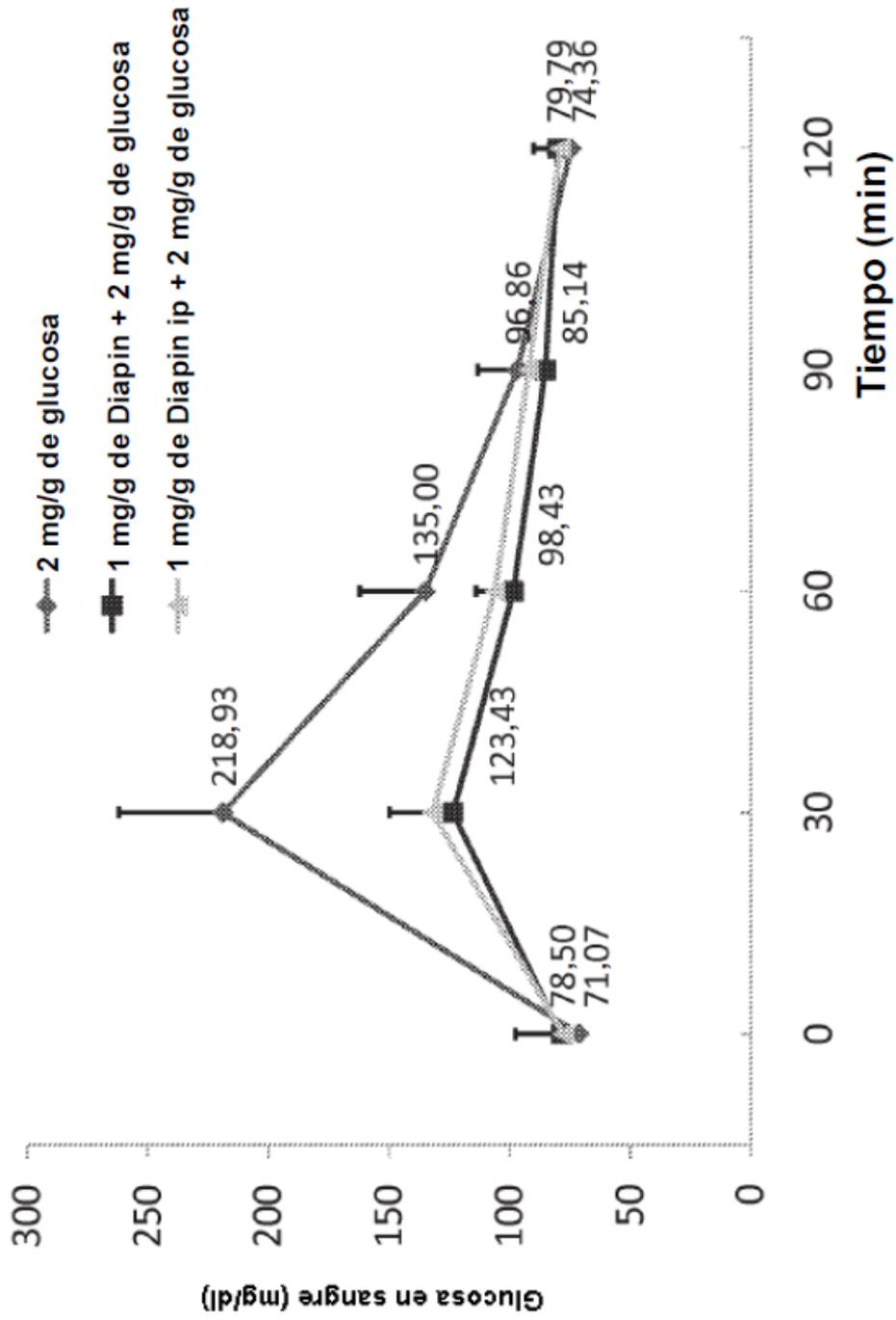


Figura 26

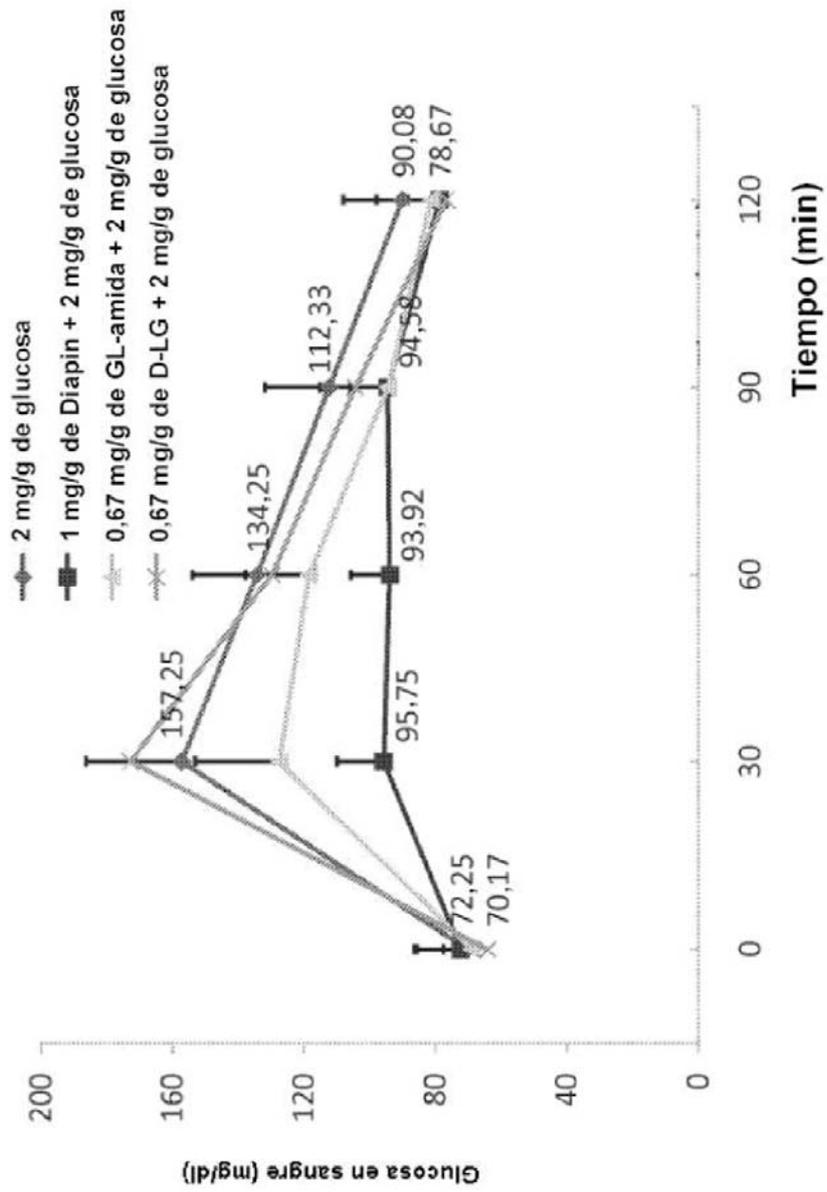


Figura 27