(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 692 187**

(51) Int. CI.:

C07K 14/605 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.06.2012 PCT/KR2012/004494**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **13.12.2012 WO12169798**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2012 E 12797363 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.07.2018 EP 2718318**

(54) Título: **Nuevos derivados de oxintomodulina y composición farmacéutica para el tratamiento de obesidad que lo comprende**

(30) Prioridad:

10.06.2011 KR 20110056472

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.11.2018

(73) Titular/es:

HANMI SCIENCE CO., LTD. (100.0%)
550, Dongtangiheung-ro, Dongtan-myeon
Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-813, KR

(72) Inventor/es:

JUNG, SUNG YOUB;
JANG, MYUNG HYUN;
SHEN, LING AI;
PARK, YOUNG KYUNG;
PARK, YOUNG JIN y
KWON, SE CHANG

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

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

Nuevos derivados de oxintomodulina y composición farmacéutica para el tratamiento de obesidad que lo comprende

Campo técnico

La presente invención se refiere a un nuevo péptido que presenta actividades excelentes sobre un glucagón, como receptor del péptido 1 y un receptor del glucagón, mayores que la oxintomodulina natural, así como una composición para la prevención o tratamiento de obesidad que comprende el péptido como principio activo.

Técnica anterior

Recientemente, el crecimiento económico y los cambios del estilo de vida están suponiendo cambios en los hábitos alimentarios. Las causas principales del aumento de los índices de sobrepeso y obesidad en la población actual son el consumo de alimentos con alto contenido en calorías, como las comidas rápidas, y la falta de ejercicio. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de mil millones de personas de todo el mundo tienen sobrepeso y al menos 300 millones de ellas son clínicamente obesas. En particular, cada año mueren en Europa 250.000 personas y más de 2.500.000 personas de todo el mundo como consecuencia de un sobrepeso (Organización Mundial de la Salud, Estrategia Global sobre Régimen Alimentario, Actividad Física y Salud, 2004)

El hecho de tener un sobrepeso y ser obeso aumenta la presión arterial y los niveles de colesterol haciendo que se produzca o se exacerben diversas enfermedades, como enfermedad cardiovascular, diabetes y artritis, siendo también las principales causas del aumento de los índices de incidencia de arteriosclerosis, hipertensión, hiperlipidemia o enfermedad cardiovascular en niños o adolescentes, así como en adultos.

La obesidad es una afección grave que causa diversas enfermedades en todo el mundo. Se cree que es posible superarla a través de un esfuerzo individual y se cree también que los pacientes obesos carecen de autocontrol. Sin embargo, es difícil tratar la obesidad, ya que la obesidad constituye un trastorno complejo que implica la regulación del apetito y el metabolismo energético. Para el tratamiento de la obesidad, deberían abordarse acciones fuera de lo habitual asociadas con una regulación del apetito y el metabolismo energético junto con el esfuerzo de los pacientes obesos. Se han realizado muchas tentativas para desarrollar fármacos con los que se puedan tratar acciones inusuales. Como consecuencia de dichos esfuerzos, se han desarrollado fármacos como Rimonabant (Sanofi-Aventis), Sibutramin (Abbott), Contrave (Takeda) y Orlistat (Roche), pero presentan la desventaja de estar asociados a graves efectos adversos y unos efectos anti-obesidad muy débiles. Por ejemplo, se ha notificado que Rimonabant (Sanofi-Aventis) presenta un efecto secundario de trastorno del sistema nervioso central, Sibutramina (Abbott) y Contrave (Takeda) presentan efectos secundarios cardiovasculares y Orlistat (Roche) presenta una pérdida de solamente 4 kg de peso cuando se consume durante 1 año. Desgraciadamente, no existen agentes terapéuticos contra la obesidad que se puedan prescribir de una forma segura a los pacientes obesos.

Se han realizado muchos estudios para desarrollar agentes terapéuticos contra la obesidad que no presenten los problemas asociados con los fármacos anti-obesidad convencionales. Recientemente, han sido el centro de una gran atención los derivados de glucagón. El glucagón se produce en el páncreas cuando desciende el nivel de glucosa en sangre como resultado de otras medicaciones o enfermedades, deficiencias de hormonas o enzimas. El glucagón estimula la descomposición del glucógeno en el hígado y facilita la liberación de glucosa para elevar los niveles de glucosa en sangre a un intervalo normal. Además del efecto de aumentar el nivel de glucosa en sangre, glucagón elimina el apetito y activa la hormona sensible a la lipasa (HSL) de adipocitos para facilitar la lipolisis, presentando así efectos anti-obesidad. Uno de los derivados de glucagón, péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) está en vías de desarrollo como agente terapéutico para hiperglucemia en pacientes con diabetes y funciona estimulando la síntesis y secreción de insulina, inhibiendo la secreción de glucagón, ralentizando el vaciamiento gástrico, aumentando la utilización de glucosa e inhibiendo la ingesta de alimento. Se ha aislado exendina-4 de veneno de lagarto que comparte aproximadamente un 50 % de homologíaB de aminoácidos con GLP-1 y se ha notificado también que activa el receptor de GLP-1, mejorando así la hiperglucemia en pacientes con diabetes. Sin embargo, se ha notificado que los fármacos anti-obesidad incluyendo GLP-1 presentan efectos secundarios, como vómitos y náuseas.

Por lo tanto, como alternativa a GLP-1, se ha concentrado una gran atención en oxintomodulina, un péptido derivado de un precursor de glucagón, pre-glucagón, que se une a los receptores de dos péptidos, GLP-1 y glucagón. Oxintomodulina representa una potente terapia anti-obesidad, ya que inhibe la ingesta de alimento, como GLP-1, promueve la saciedad y tiene una actividad lipolítica como la de glucagón.

Basándose en la doble función del péptido de oxintomodulina, se ha estudiado activamente como fármaco para el tratamiento de obesidad. Por ejemplo, la patente coreana No. 925017 desvela una composición farmacéutica que incluye oxintomodulina como principio activo para el tratamiento de sobrepeso humano, que se administra por vía oral, parenteral, mucosa, rectal, subcutánea o transdérmica. Sin embargo, se ha notificado que este fármaco anti-obesidad que incluye oxintomodulina tiene una semivida *in vivo* corta y una escasa eficacia terapéutica, incluso aunque se administre en una dosis alta tres veces al día. Por tanto, se ha dedicado un gran esfuerzo a mejorar la semivida *in vivo* o el efecto terapéutico de oxintomodulina en la obesidad a través de su modificación.

Por ejemplo, se ha preparado un agonista dual oxintomodulina (Merck) sustituyendo L-serina por D-serina en la posición 2 de oxintomodulina para aumentar la resistencia a dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV) y uniendo una fracción colesterol en el terminal C para aumentar la semivida en sangre al mismo tiempo. ZP2929 (Zealand) se prepara sustituyendo L-serina por D-serina en la posición 2 para aumentar la resistencia a DPP-IV, sustituyendo arginina por alanina en la posición 17 para potenciar la resistencia a proteasa, sustituyendo metinina por lisina en la posición 27 para potenciar la estabilidad oxidativa y sustituyendo glutamina por ácido aspártico y alanina en las posiciones 20 y 24 y asparagina por serina en la posición 28 para mejorar la estabilidad de desaminación. Sin embargo, aunque se potenció la semivida del agonista dual oxintomodulina (Merck) para presentar una semivida de 8-12 minutos más que la oxintomodulina natural, sigue teniendo una semivida *in vivo* muy corta de 1,7 horas y su dosis de administración también es de varios mg/kg de alta. Desgraciadamente, la oxintomodulina o sus derivados presentan los inconvenientes de una administración diaria a altas dosis debido a la corta semivida y la baja eficacia.

Divulgación de la invención

Problema técnico

En consecuencia, los autores de la presente invención han desarrollado un derivado de oxintomodulina preparado por modificación de la secuencia de aminoácidos de oxintomodulina natural para potenciar sus efectos terapéuticos sobre la obesidad y reducir su dosis de administración. Como resultado, observaron que el derivado de oxintomodulina presenta actividades más excelentes sobre un receptor del glucagón y un receptor del GLP-1 que la oxintomodulina natural, por lo que han completado la presente invención.

Solución al problema

Un objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo péptido que presenta excelentes efectos terapéuticos sobre la obesidad.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición para la prevención o tratamiento de obesidad que comprende el péptido.

Otro objeto más de la presente invención es proporcionar un procedimiento para prevenir o tratar la obesidad administrando el péptido o la composición a un sujeto.

Otro objeto más aún de la presente invención es proporcionar el uso del péptido en la preparación de fármacos para la prevención o tratamiento de obesidad.

Efectos ventajosos de la invención

A diferencia de la oxintomodulina natural, el nuevo péptido de la presente invención reduce la ingesta de alimento, suprime el vaciamiento gástrico y facilita la lipolisis sin efectos secundarios y presenta también excelentes efectos de activación de receptor. Por tanto, se puede aplicar de forma extendida para el tratamiento de obesidad con seguridad y eficacia.

Breve descripción de los dibujos

FIG. 1 es un gráfico en el que se muestran los cambios de la ingesta de alimento dependiendo de la dosis de administración de oxintomodulina o derivado de oxintomodulina.

Mejor modo de realización de la invención

Para conseguir los objetos mencionados, la presente invención proporciona un nuevo péptido que incluye la secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24, 25 o 26. En la que X es Aib (ácido aminoisobutírico)

Los aminoácidos mencionados en el presente documento se abrevian de acuerdo con las reglas de nomenclatura de la IUPAC-IUB, del siguiente modo

Alanina A Arginina R
Asparagina N Ácido aspártico D
Cisteína C Ácido glutámico E
Glutamina Q Glicina G
Histidina H Isoleucina I
Leucina L Lisina K
Metionina M Fenilalanina F
Prolina P Serina S
Treonina T Triptofano W
Tirosina Y Valina V

Los péptidos que incluyen estos aminoácidos y secuencias de péptidos atípicas pueden sintetizarse y adquirirse de proveedores comerciales, como por ejemplo American Peptide Company o Bachem (Estados Unidos) o Anygen (Corea).

Oxintomodulina tiene actividades de dos péptidos, GLP-1 y glucagón. GLP-1 disminuye la glucosa en sangre, reduce la ingesta de alimento y suprime el vaciamiento gástrico, y glucagón aumenta la glucosa en sangre, facilita la lipolisis y disminuye el peso corporal aumentando los metabolismos energéticos. Los diferentes efectos biológicos de dos péptidos pueden causar efectos no deseables como aumentar la glucosa en sangre, si glucagón presenta un efecto más dominante que GLP-1, o causar náuseas y vómitos si GLP-1 presenta un efecto más dominante que glucagón. Por lo tanto, los derivados de oxintomodulina de la presente invención no solamente tienen por objeto aumentar estas actividades, por ejemplo es posible modificar los aminoácidos en la posición 1 y 11 de la oxintomodulina que suprimen la actividad de glucagón equilibrando las relaciones de actividad entre glucagón y GLP-1.

Los autores de la presente invención realizaron experimentos *in vitro* para demostrar que el péptido de la presente invención presenta excelentes actividades en el receptor del GLP-1 y el receptor del glucagón, en comparación con oxintomodulina. Por lo tanto, se propone que el péptido de la presente invención active el receptor del GLP-1 y el receptor del glucagón para presentar efectos terapéuticos más excelentes sobre la obesidad que la oxintomodulina convencional. Por otra parte, se examinaron los efectos inhibidores sobre la ingesta de alimentos *in vivo*, y presenta efectos inhibidores más excelentes en la ingesta de alimento que la oxintomodulina convencional (FIG. 1).

Para las personas especializadas en la materia será evidente que cuando se modifican los derivados de oxintomodulina de la presente invención aplicando las técnicas normales, incluyendo modificación con polímeros como PEG y cadenas de azúcar o fusión con albúmina, transferrina, ácido graso e inmunoglobulina para mejorar los efectos terapéuticos de los derivados de oxintomodulina, presentarán unos efectos terapéuticos superiores a los de oxintomodulina natural. Por lo tanto, se incluyen dentro del ámbito de la presente invención los derivados de oxintomodulina modificados.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido que codifica el péptido.

El término “homología” tal como se emplea en el presente documento para el polinucleótido indica una similitud de secuencia entre las secuencias de aminoácido de tipo silvestre y las secuencias de nucleótidos de tipo silvestre e incluye una secuencia de genes que es idéntica en un 75 % o más, preferentemente 85 % o más, más preferentemente 90 % o más e incluso más preferentemente 95 % o más a la secuencia de polinucleótidos que codifica el péptido. La evaluación de la homología puede realizarse a simple vista o empleando un programa disponible en el mercado. Si se utiliza un programa informático disponible en el mercado, puede expresarse la homología entre dos o más secuencias como porcentaje (%) y evaluarse la homología (%) entre secuencias adyacentes. Se inserta el polinucleótido que codifica el péptido en un vector y se expresa para obtener una cantidad grande del péptido.

En otro aspecto más, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de obesidad que comprende el péptido.

Tal como se emplea en el presente documento, el término "prevención" significa todas las acciones a través de las cuales se restringe o retarda la aparición de obesidad mediante la administración del péptido o la composición, y el término “tratamiento” significa todas las acciones a través de las cuales la obesidad da un giro positivo o se modifica favorablemente mediante la administración del péptido o la composición.

Tal como se emplea en el presente documento, el término "administración" significa la introducción de una cantidad de una sustancia predeterminada en un paciente a través de un procedimiento adecuado concreto. La composición de la presente invención puede administrarse a través de las vías habituales, siempre y cuando pueda alcanzar el tejido deseado, por ejemplo, pero sin limitarse a ellas, administración intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, oral, tópica, intranasal, intrapulmonar o intrarectal. Sin embargo, dado que los péptidos se digieren tras la administración oral, los principios activos de una composición para administración oral deberán estar revestidos o formularse para protección contra la degradación en el estómago.

Tal como se emplea en el presente documento, el término "obesidad" implica la acumulación de una cantidad excesiva de tejido adiposo en el cuerpo y se considera como obesidad un índice de masa corporal (peso corporal (kg) dividido por el cuadrado de la altura (m)) por encima de 25. La obesidad está causada normalmente por un desequilibrio energético, cuando la cantidad de ingesta de la dieta excede la cantidad de energía gastada durante un período de tiempo prolongado. La obesidad es una enfermedad metabólica que afecta a todo el organismo y aumenta el riesgo de diabetes, hiperlipidemia, disfunción sexual, artritis y enfermedades cardiovasculares y, en algunos casos, está asociada a la incidencia de cáncer.

La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir además un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. Tal como se emplea en el presente documento, el término “farmacéuticamente aceptable significa que la composición es suficiente para conseguir los efectos terapéuticos sin producir efectos secundarios dañinos y puede determinarse fácilmente dependiendo del tipo de enfermedad, la edad del paciente, el peso corporal, el estado de salud, el género y la sensibilidad a los fármacos, la ruta de administración, el modo de

administración, la frecuencia de administración la duración del tratamiento, los fármacos utilizados en combinación o a la vez que la composición de la presente invención, así como otros factores conocidos en medicina.

La composición farmacéutica que incluye el derivado de la presente invención puede incluir además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Para administración oral, el vehículo puede incluir, pero sin limitarse a ellos, un aglutinante, un lubricante, un disgregante, un excipiente, un solubilizante, un agente dispersante, un estabilizante, un agente de suspensión, un colorante y un aromatizante. Para las preparaciones inyectables, el vehículo puede incluir un agente de tampón, un agente conservante, un analgésico, un solubilizante, un agente isotónico y un estabilizante. Para preparaciones para administración tópica, el vehículo puede incluir una base, un excipiente, un lubricante y un agente conservante.

La composición de la presente invención puede formularse en diversas formas de dosificación en combinación con los vehículos farmacéuticamente aceptables mencionados. Por ejemplo, para administración oral, puede formularse la composición farmacéutica en comprimidos, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes y obleas. Para preparaciones inyectables, puede formularse la composición farmacéutica en una ampolla como forma de dosis unitaria o envases de multidosis. La composición farmacéutica puede formularse también en soluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas y preparaciones de actuación prolongada.

Por otra parte, entre los ejemplos de vehículos, excipientes y diluyente adecuados para las formulaciones farmacéuticas se incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, maltitol, almidón, goma arábiga, alginato, gelatina, fosfato cálcico, silicato de calcio, celulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina, polivinil pirrolidona, agua, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio y aceites minerales. Por otra parte, las formulaciones farmacéuticas pueden incluir además cargas, agentes anti-coagulantes, lubricantes, humectantes, aromatizantes y antisepticos.

Asimismo, la composición farmacéutica de la presente invención puede presentar cualquier formulación seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, polvos, granulados, cápsulas, suspensiones, líquidos para uso interno, emulsiones, jarabes, soluciones acuosas estériles, disolventes no acuosos, formulaciones liofilizadas y supositorios.

Asimismo, puede formularse la composición en una forma de dosis unitaria adecuada para el organismo del paciente y, preferentemente, se formula en una preparación útil para fármacos de péptido de acuerdo con el procedimiento típico en el campo farmacéutico para su administración a través de una ruta oral o parenteral, como por ejemplo la administración a través de la piel, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intraventricular, pulmonar, transdérmica, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, intracolónica, tópica, sublingual, vaginal o rectal, pero sin limitarse a ellas.

El péptido puede utilizarse mezclándolo con diversos vehículos farmacéuticamente aceptables como por ejemplo solución salina fisiológica o disolventes orgánicos. Para aumentar la estabilidad o la capacidad de absorción, es posible utilizar hidratos de carbono como glucosa, sacarosa o dextranos, antioxidantes como ácido ascórbico o glutationa, agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular u otros estabilizantes.

La dosis y la frecuencia de administración de la composición farmacéutica de la presente invención se determinan según el tipo de principio activo, en combinación con otros factores diversos como la enfermedad que se va a tratar, la ruta de administración, la edad del paciente, el género y el peso corporal, así como la gravedad de la enfermedad.

La dosis eficaz total de la composición de la presente invención puede administrarse a un paciente en una dosis unitaria o se puede administrar durante un período de tiempo prolongado en varias dosis de acuerdo con el protocolo de tratamiento fraccionado. En la composición farmacéutica de la presente invención, el contenido en principio activo puede variar dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Preferentemente, la dosis diaria total del péptido de la presente invención puede oscilar entre aproximadamente 0,0001 µg y 500 mg por 1 kg de peso corporal del paciente. Sin embargo, la dosis eficaz del péptido se determina considerando varios factores, entre los que se incluyen la edad del paciente, el peso corporal, el estado de salud, el género, la gravedad de la enfermedad, la dieta y la velocidad de secreción, así como la ruta de administración y la frecuencia de tratamiento de la composición farmacéutica. Teniendo todo esto en cuenta, las personas especializadas en la materia podrán determinar fácilmente la dosis eficaz adecuada para el uso en particular de la composición farmacéutica de la presente invención. La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención no está limitada en particular a la formulación ni la ruta y el modo de administración, siempre y cuando presente los efectos de la presente invención.

La composición farmacéutica de la presente invención tiene una duración de la eficacia y título *in vivo* excelente, por lo que se reducen notablemente el número y la frecuencia de administración de la misma.

Por otra parte, la composición farmacéutica puede administrarse en solitario o en combinación o simultáneamente con otras formulaciones farmacéuticas que presentan efectos profilácticos o terapéuticos sobre la obesidad. Las formulaciones farmacéuticas que presentan efectos profilácticos o terapéuticos sobre la obesidad no están limitados en particular y pueden incluir un agonista del receptor de GLP-1, un agonista de receptor de leptina, un inhibidor de DPP-IV, un antagonista de receptor de Y5, un antagonista de receptor de la hormona de concentración de melanina

(MCH), un agonista de receptor de Y2/3, un agonista de receptor de MC3/4, un inhibidor de lipasa gástrica/pancreática, un agonista de 5HT2c, un agonista de receptor β3A, un agonista de receptor de amilina, un antagonista de Ghrelina y/o un antagonista de receptor de Ghrelina

En otro aspecto más, la presente invención proporciona un procedimiento para prevenir o tratar la obesidad, que comprende la etapa de administrar a un sujeto el péptido o la composición farmacéutica que lo incluye.

En la presente invención, el término “sujeto” se refiere a aquel de quien se sospecha que tiene obesidad, lo cual significa mamíferos, incluyendo ser humano, ratón y ganado que tiene obesidad o que tiene la posibilidad de obesidad. Sin embargo, se incluye sin limitación cualquier sujeto que se vaya a tratar con el péptido o la composición farmacéutica de la presente invención. Se administra la composición farmacéutica que incluye el péptido de la presente invención al sujeto del que se sospecha que tiene obesidad tratando así al sujeto de manera eficaz. La obesidad es tal como se ha descrito.

El procedimiento terapéutico de la presente invención puede incluir la etapa de administrar la composición que incluye el péptido en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La dosis diaria total deberá determinarse según el criterio médico apropiado del facultativo y se administrará de una a varias veces al día. En lo que respecta a los objetos de la presente invención, el nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cada paciente en particular podrá variar dependiendo de diversos factores conocidos en la especialidad médica, entre los que se incluyen la clase y grado de respuesta que se va a conseguir, las composiciones concretas dependiendo de que se utilicen o no otros agentes con ella, la edad del paciente, el peso corporal, el estado de salud, el género y la dieta, el momento y la ruta de administración, la velocidad de secreción de la composición, el período de tiempo de la terapia, otros fármacos utilizados en combinación o simultáneamente con la composición de la presente invención y factores similares conocidos en la especialidad médica.

En otro aspecto más aún, la presente invención proporciona un uso del péptido o la composición farmacéutica que lo incluye para la preparación de fármacos para la prevención o tratamiento de obesidad.

Modo de la invención

A continuación, se describirá la presente invención con más detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, dichos ejemplos tienen un fin ilustrativo únicamente y no se pretende que la invención quede limitada con dichos ejemplos.

Ejemplo 1. Producción de línea celular activada *in vitro*

Ejemplo 1-1: Producción de línea celular que presenta respuesta de cAMP a GLP-1

Se llevó a cabo la PCR utilizando una región que correspondía al ORF (Marco de lectura abierto) en el ADNc (OriGene Technologies, Inc. Estados Unidos) de gen receptor de GLP-1 humano como matriz y los siguientes cebadores directos e inversos incluyendo cada uno de los sitios de restricción HindIII e EcoRI para obtener un producto de PCR.

Cebador directo: 5’-CCCGGCCCCCGCGGCCGCTATTCGAAATAC-3’ (SEQ ID NO. 47)
Cebador inverso: 5’-GAACGGTCCGGAGGACGTCGACTCTTAAGATAG-3’ (SEQ ID NO. 48)

Se clonó el producto de PCR en un vector de expresión de células animales conocido x0GC/dhfr para preparar un vector recombinante x0GC/GLP1R.

Se transfectó la línea celular CHO DG44 cultivada en medio DMEM/F12 (10 % FBS) con el vector recombinante x0GC/GLP1R utilizando Lipofectamina (Invitrogen, Estados Unidos) y se cultivó en un medio de selección que contenía 1 mg/ml de G418 y 10 nM de metotraxato. Se seleccionaron líneas celulares clónicas únicas del mismo por técnica de dilución limitada y se seleccionó finalmente una línea celular que presentaba una respuesta cAMP excelente para GLP-1 de manera dependiente de la concentración.

Ejemplo 1-2: Producción de línea celular que presenta respuesta de cAMP a glucagón

Se llevó a cabo la PCR utilizando una región que correspondió al ORF en ADNc (OriGene Technologies, Inc. Estados Unidos) del gen del receptor de glucagón humano como matriz y los siguientes cebadores directo e inverso, incluyendo cada uno los sitios de restricción EcoRI y XhoI para obtener un producto de PCR.

Cebador directo: 5’-CAGCGACACCGACCGTCCCCCCGTACTTAAGGCC-3’ (SEQ ID NO. 49)
Cebador inverso: 5’-CTAACCGACTCTCGGGGAAGACTGAGCTCGCC-3’ (SEQ ID NO. 50)

Se clonó el producto de PCR en el vector de expresión de célula animal conocido x0GC/dhfr para preparar un vector recombinante x0GC/GCGR.

Se transfectó una línea de células CHO DG44 cultivadas en medio DMEM/F12 (10 % FBS) con el vector recombinante x0GC/GCGR utilizando Lipofectamina y se cultivó en un medio de selección que contenía 1 mg/ml

G418 y methotraxate10 nM. Se seleccionaron líneas de células clónicas únicas a partir del mismo a través de una técnica de dilución limitada y finalmente se seleccionó una línea celular que presentó una respuesta de cAMP excelente a glucagón de manera dependiente de la concentración.

Ejemplo 2. Ensayo sobre la actividad *in vitro* de derivados de oxintomodulina

Ejemplo 2-1: Síntesis de derivados de oxintomodulina

Para medir las actividades *in vitro* de derivados de oxintomodulina, se sintetizaron derivados de oxintomodulina que tenían las siguientes secuencias de aminoácido (Tabla 1).

Tabla 1

[Tabla 1]

Oxintomodulina y derivados de oxintomodulina	
SEQIDNO.	**Secuencia de aminoácidos**
SEQ ID NO. 1	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 2	CA-SQGTFTSDYSKYLDEEAVRLFIEWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 3	CA-SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNTGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 4	CA-GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID NO. 5	CA-GQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPP
SEQ ID NO. 6	CA-GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSKYLD
SEQ ID NO. 7	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWLMNTK
SEQ ID NO. 8	CA-SQGTFTSDLSRQLEEEAVRLFIEWLMNK
SEQ ID NO. 9	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVXLFIEWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 10	CA-SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 11	CA-GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAAHSQGTFTSDYSRYLDK
SEQ ID NO. 12	CA-SQGTFTSDYSRYLDGGGHGEGTFTSDLSKQMEEEAVK
SEQ ID NO. 13	CA-SQGTFTSDYSRYLDXEAVXLFIEWLMNTK
SEQ ID NO. 14	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVXLFIXWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 15	CA-GQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIXWLMNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 16	CA-SQGTFTSDLSRQLEGGGHSQGTFTSDLSRQLEK
SEQ ID NO. 17	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWIRNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 18	CA-SQGTFTSDYSRYLDEEAVRLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 19	CA-SQGTFTSDYSRYLD **E** EAV **K** LFIEWIRN-TKRNRNNIA
SEQ ID NO. 20	CA-SQGTFTSDYSRYLD **E** EAV **K** LFIEWIRNGG-PSSGAPPPSK
SEQ ID NO. 21	CA-SQGTFTSDYSRQLEEEAVRLFIEWVRNTKRNRNNIA
SEQ ID NO. 22	DA-SQGTFTSDYSKYLD **E** KRA **K** EFVQWLMNTK
SEQ ID NO. 23	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVCWLMNT
SEQ ID NO. 24	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 25	HAibQGTFTSDYSKYLD **E** KRA **K** EFVQWLMNTC

(continuación)

Oxintomodulina y derivados de oxintomodulina	
SEQIDNO.	**Secuencia de aminoácidos**
SEQ ID NO. 26	HAibQGTFTSDYS **K** YLD **E** KRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 27	HAibQGTFTSDYSKYLD **E** QAA **K** EFICWLMNT
SEQ ID NO. 28	HAibQGTFTSDYSKYLDEKRAKEFVQWLMNT
SEQ ID NO. 29	CA-AibQGTFTSDYSKYLD **E** KRA **K** EFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 30	HAibQGTFTSDYAKYLD **E** KRA **K** EFVQWLMNTC
SEQ ID NO. 31	YAibQGTFTSDYSKYLD **E** KRA **K** EFVQWLMNTC

En la Tabla 1, los aminoácidos en negrita y subrayados representan la formación de anillo y los aminoácidos representados con una X significan aminoácido no natural, ácido alfa-metil-glutámico. Por otra parte, CA representa 4-imidazoacetilo y DA representa desamino-histidilo.

Ejemplo 2-2: Ensayo sobre la actividad *in vitro* de derivados de oxintomodulina

Para medir la eficacia anti-obesidad de los derivados de oxintomodulina sintetizada en el Ejemplo 2-1, se midió la actividad celular *in vitro* utilizando las líneas celulares preparadas en los Ejemplos 1-1 y 1-2.

Las líneas celulares fueron las preparadas por transfección de células CHO (ovario de hámster chino) para expresar el gen de receptor del GLP-1 humano y el gen del receptor del glucagón, respectivamente. Así pues, fueron adecuados para medir las actividades de GLP-1 y glucagón. Por tanto, se midió la actividad de cada uno de los derivados de oxintomodulina utilizando cada una de las líneas celulares transformadas.

Concretamente, se sub-cultivó cada una de las líneas celulares dos o tres veces a la semana y se repartió en partes alícuotas en cada pocillo de una placa de 96 pocillos a una densidad de 1 x 10^5, seguido del cultivo durante 24 horas.

Se lavaron las células cultivadas con tampón KRB y se suspendieron en 40 ml de tampón KRB que contenía IBMX 1 mM, y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se diluyeron la oxintomodulina (SEQ ID NO. 1) y los derivados de oxintomodulina (representados por las SEQ ID NO. 2-6, 8, 10-13, 17, 18, 23-25, 27-30 y 31) desde 1000 nM a 0,02 nM sucesivamente 5 veces y se agregaron 40 ml de cada a las células y se cultivaron a 37 ºC durante 1 hora en una incubadora de CO_2. A continuación, se agregaron 20 ml de tampón de lisis celular para la lisis celular y se aplicaron los lisados celulares a un equipo de ensayo de cAMP (Molecular Device, Estados Unidos) para medir las concentraciones de cAMP. Se calcularon los valores EC_{50} a partir de ellos y se compararon entre sí. En la Tabla 2 a continuación, se muestran los valores EC_{50}.

Tabla 2

[Tabla 2]

Comparación de las actividades *in vitro* para el receptor de GLP-1 y el receptor del glucagón entre oxintomodulina y derivados de oxintomodulina		
SEQ ID NO.	EC_{50} (nM)	
	CHO/GLP-1R	CHO/GCGR
SEQ ID NO. 1	50 - 210	10-43
SEQ ID NO.2	51,8	12,8
SEQ ID NO. 3	>1,000	637,7
SEQ ID NO. 4	5,5	>1,000
SEQ ID NO. 5	5,9	>1,000
SEQ ID NO. 6	500,1	>1,000

(continuación)

Comparación de las actividades *in vitro* para el receptor de GLP-1 y el receptor del glucagón entre oxintomodulina y derivados de oxintomodulina		
SEQ ID NO.	EC_{50} (nM)	
	CHO/GLP-1R	CHO/GCGR
SEQ ID NO. 8	419,6	>1,000
SEQ ID NO. 10	>1,000	>1,000
SEQ ID NO. 11	>1,000	>1,000
SEQ ID NO. 12	>1,000	>1,000
SEQ ID NO. 13	>1,000	>1,000
SEQ ID NO. 17	97,9	>1,000
SEQ ID NO. 18	96,3	>1,000
SEQ ID NO. 23	2,46	5,8
SEQ ID NO. 24	1,43	6,95
SEQ ID NO. 25	1,9	1,3
SEQ ID NO. 27	2,8-5,5	3,1-5,6
SEQ ID NO. 28	3,1	0,3
SEQ ID NO. 29	14,25	17,3
SEQ ID NO. 30	2,20	80,2
SEQ ID NO. 31	12,5	1,0

Tal como se muestra en la Tabla 2, hubo derivados de oxintomodulina que presentaron una excelente actividad *in vitro* y diferentes relaciones de actividades del receptor de GLP-1 y receptor del glucagón en comparación con oxintomodulina natural de SEQ ID NO. 1.

Se sabe que la oxintomodulina activa tanto el receptor de GLP-1 como el receptor del glucagón para eliminar el apetito, facilitar la lipolisis y promover la saciedad, por lo cual presentan efectos anti-obesidad. Los derivados de oxintomodulina de acuerdo con la presente invención presentan actividades *in vitro* superiores, tanto sobre el receptor de GLP-1 como sobre el receptor del glucagón, a las de la oxintomodulina de tipo silvestre y, por lo tanto, se puede utilizar como agente terapéutico para la obesidad con una mayor eficacia que la oxintomodulina conocida.

Ejemplo 3. Ensayo sobre la actividad *in vivo* de derivados de oxintomodulina

Para medir la actividad terapéutica *in vivo* de derivados de oxintomodulina, se examinaron los cambios en la ingesta de alimento por administración de derivados de oxintomodulina en ratón ob/ob utilizando oxintomodulina natural como control.

Concretamente, se sometieron a ayuno ratones ob/ob diabéticos obesos, utilizados normalmente para determinar la eficacia de agentes terapéuticos en cuanto a la obesidad y diabetes, durante 16 horas y se les administró 1 o 10 mg/kg de oxintomodulina o 0,02, 0,1, 1 o 10 mg/kg del derivado de oxintomodulina de SEQ ID NO. 2. A continuación, se examinó la ingesta de alimento durante 2 horas (FIG. 1). La FIG. 1 es un gráfico en el que se muestran los cambios de la ingesta de alimento dependiendo de la dosis de administración de oxintomodulina o derivado de oxintomodulina. Tal como se muestra en la FIG. 1, la administración de 1 mg/kg de derivado de oxintomodulina presentó efectos inhibidores más excelentes en la ingesta de alimento que la administración de 10 mg/kg de oxintomodulina.

En conjunto, los derivados de oxintomodulina de la presente invención tienen efectos anti-obesidad mucho más altos que la oxintomodulina de tipo silvestre, incluso aunque se administre en dosis más bajas, lo cual indica una mejora

con respecto a los problemas asociados con la oxintomodulina de tipo silvestre que presenta unos efectos anti-obesidad inferiores y debería administrarse en una dosis alta tres veces al día.

<110> HANMI SCIENCE CO., LTD.

<120> Nuevos derivados de oxintomodulina y Composición Farmacéutica para el tratamiento de obesidad que los comprende

<130> OPA12062/PCT

<150> KR 10-2011-0056472
<151> 10-06-2011

<160> 50

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1
<211> 37
<212> PRT
<213> oxintomodulina

<400> 1

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

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

Arg Asn Asn Ile Ala
         35
```

<210> 2
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 2

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
             20                  25                  30

Arg Asn Asn Ile Ala
         35
```

<210> 3
<211> 39
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.
<400> 3

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Ala Trp Leu Lys Asn Thr Gly Pro Ser
             20                  25                  30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
         35
```

<210> 4
<211> 39
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 4

```
His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Glu Glu
  1               5                  10                  15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
         35
```

<210> 5
<211> 39
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 5

```
His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu
  1               5                  10                  15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
         35
```

<210> 6
<211> 42
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 6

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala His Ser Gln Gly Thr
            20                  25                  30

Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp
        35                  40
```

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 7

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1               5                  10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys
            20                  25                  30
```

<210> 8
<211> 29
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 8

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Leu Glu Glu
 1               5                  10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Lys
            20                  25
```

<210> 9
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 9

```
His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1               5                  10                  15

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
            20                  25                  30

Arg Asn Asn Ile Ala
        35
```

<210> 10
<211> 40
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 10

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu
 1               5                  10                  15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
        35                  40
```

<210> 11
<211> 43
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 11

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala His Ser Gln Gly Thr
            20                  25                  30

Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Lys
        35                  40
```

<210> 12
<211> 38
<212> PRT
<213> derivados oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 12

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

Gly Gly His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met
             20                  25                  30

Glu Glu Glu Ala Val Lys
         35
```

<210> 13
<211> 30
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<220>
<221> VARIANTE
<222> (16)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 13

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Xaa
  1               5                  10                  15

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys
             20                  25                  30
```

<210> 14
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<220>
<221> VARIANTE
<222> (20)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<220>
<221> VARIANTE
<222> (24)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 14

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

Glu Ala Val Xaa Leu Phe Ile Xaa Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 15
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<220>
<221> VARIANTE
<222> (24)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 15

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

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Xaa Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
35

<210> 16
<211> 34
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 16

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gly Gly His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Leu
20 25 30

Glu Lys

<210> 17
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>

<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 17

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
  1               5                  10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Thr Lys Arg Asn
             20                  25                  30

Arg Asn Asn Ile Ala
         35
```

<210> 18
<211> 40
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 18

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
  1               5                  10                  15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
         35                  40
```

<210> 19
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 19

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
  1               5                  10                  15

Glu Ala Val Lys Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Thr Lys Arg Asn
             20                  25                  30

Arg Asn Asn Ile Ala
         35
```

<210> 20
<211> 40
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 20

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1               5                  10                  15

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
        35                  40
```

<210> 21
<211> 37
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 21

```
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Leu Glu Glu
 1               5                  10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Val Arg Asn Thr Lys Arg Asn
            20                  25                  30

Arg Asn Asn Ile Ala
        35
```

<210> 22
<211> 30
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<400> 22

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

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

<210> 23
<211> 29
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE

<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 23

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr
            20                  25
```

<210> 24
<211> 30
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico
<400> 24

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
            20                  25                  30
```

<210> 25
<211> 30
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 25

```
His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu

 1               5                  10                  15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
            20                  25                  30
```

<210> 26
<211> 30
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 26

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
            20                  25                  30
```

<210> 27
<211> 29
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 27

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr
            20                  25
```

<210> 28
<211> 29
<212> PRT
<213> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 28

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
            20                  25
```

<210> 29
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (1)
<223> Esta “H” se refiere a un derivado de histidina, 4-imidazoacetilo.

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 29

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

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
            20                  25                  30
```

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

<220>
<223> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 30

```
His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Lys Tyr Leu Asp Glu
 1               5                  10                  15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
            20                  25                  30
```

<210> 31
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> derivado de oxintomodulina

<220>
<221> VARIANTE
<222> (2)
<223> Xaa = ácido aminoisobutírico

<400> 31

```
Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1               5                  10                  15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
            20                  25                  30
```

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo R2

<400> 32

```
Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala
 1               5
```

<210> 33

<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo R2

<400> 33

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
1 5 10

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo R2

<400> 34

Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
1 5 10

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo R2

<400> 35

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

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

<220>
<223> grupo R2

<400> 36

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

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

<220>
<223> grupo R2

<400> 37

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

Glu Ala Val Lys
20

<210> 38
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 38

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

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

<210> 39
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 39

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

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr
20 25

<210> 40
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 40

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

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

<210> 41
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 41

```
Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Glu Glu Glu
  1               5                  10                  15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly
            20                  25
```

<210> 42
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 42

```
Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
  1               5                  10                  15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly
            20                  25
```

<210> 43
<211> 26
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 43

```
Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
  1               5                  10                  15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala
            20                  25
```

<210> 44
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo A o B

<400> 44

```
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
  1               5                  10                  15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Gly
            20                  25
```

<210> 45
<211> 24
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> grupo B

<400> 45

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

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp
20

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> grupo B

<400> 46

Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp
1 5 10

<210> 47
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador

<400> 47
cccggccccc gcggccgcta ttcgaaatac 30

<210> 48
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador

<400> 48
gaacggtccg gaggacgtcg actcttaaga tag 33

<210> 49
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cebador

<400> 49
cagcgacacc gaccgtcccc ccgtacttaa ggcc 34

<210> 50
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador

<400> 50
ctaaccgact ctcggggaag actgagctcg cc 32

5

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 24, 25, o 26.

2. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la secuencia de aminoácidos comprende la SEQ ID NO: 24.

3. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los aminoácidos en las posiciones 12 y 16, o 16 y 20 forman un anillo.

4. El péptido de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la secuencia de aminoácidos comprende la SEQ ID NO: 25.

5. El péptido de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la secuencia de aminoácidos comprende la SEQ ID NO: 26.

6. El péptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el péptido tiene efectos anti-obesidad.

7. Una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de la obesidad, que comprende el péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 como principio activo.

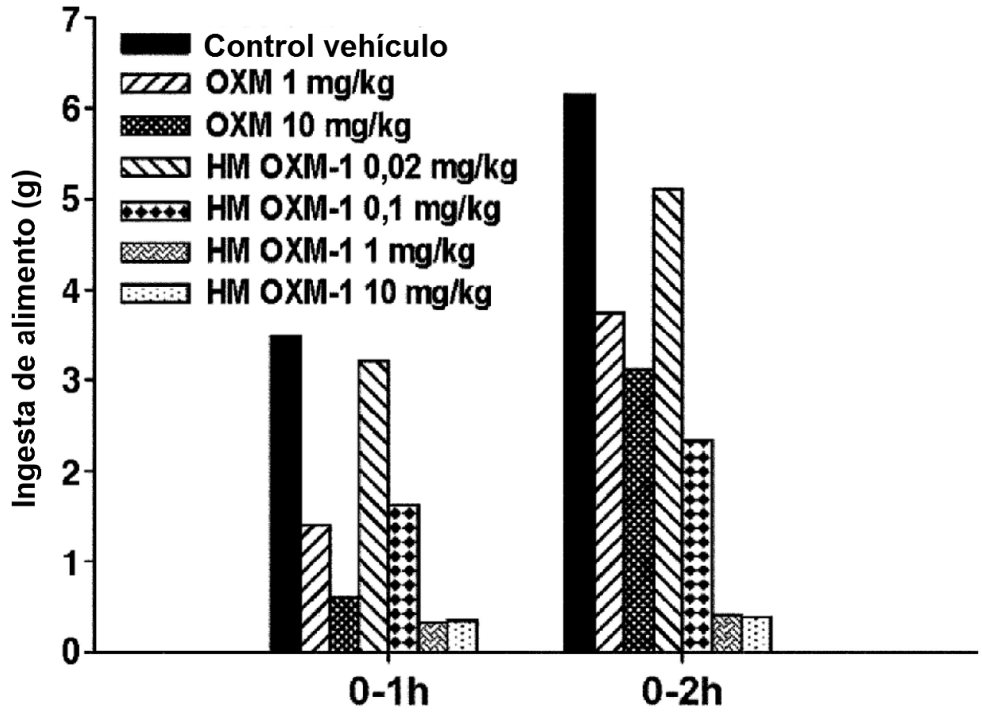
8. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en la que la composición se administra en solitario o combinada o simultáneamente con otras formulaciones farmacéuticas que presentan efectos profilácticos o terapéuticos contra la obesidad.

10. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que la formulación farmacéutica que presenta efectos profilácticos o terapéuticos contra la obesidad es un agonista de receptor de GLP-1, un agonista de receptor de leptina, un inhibidor de DPP-IV, un antagonista de receptor de Y5, un antagonista de receptor de hormona de concentración de melanina (MCH), un agonista de receptor de Y2/3, un agonista de receptor de MC3/4, un inhibidor de lipasa gástrica/pancreática, un agonista de 5HT2c, un agonista de receptor β3A, un agonista de receptor de amilina, un antagonista de Ghrelina o un antagonista de receptor de Ghrelina.

11. Un péptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 para su uso en la prevención o tratamiento de la obesidad.

[Fig. 1]


Ingesta de alimento (g)
0
1
2
3
4
5
6
7
Control vehículo
OXM 1 mg/kg
OXM 10 mg/kg
HM OXM-1 0,02 mg/kg
HM OXM-1 0,1 mg/kg
HM OXM-1 1 mg/kg
HM OXM-1 10 mg/kg
0-1h
0-2h