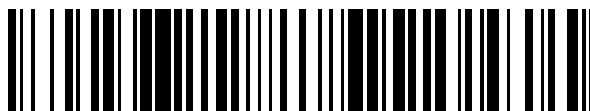


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 110**

51 Int. Cl.:

C07K 7/08 (2006.01)

C07K 7/02 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014** **PCT/CN2014/073483**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014** **WO14139472**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014** **E 14762306 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018** **EP 2970385**

54 Título: **Composiciones y métodos de uso de péptidos de neogénesis insular y análogos de los mismos**

30 Prioridad:

15.03.2013 WO PCT/CN2013/072771

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.03.2019

73 Titular/es:

SHENZHEN HIGHTIDE BIOPHARMACEUTICAL, LTD. (100.0%)
Suite A232, No. 19 Gaoxin C. 1st Avenue,
Nanshan
Shenzhen, Guangdong 518057, CN

72 Inventor/es:

LIU, LIPING y
BAI, RU

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 703 110 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 y métodos de uso de péptidos de neogénesis insular y análogos de los mismos

Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere de un modo general al campo de la medicina y productos farmacéuticos, y más concretamente a terapias con péptidos para tratar la diabetes y otras enfermedades.

La diabetes mellitus (DM) afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo. Hay dos tipos principales de DM: DM tipo 1 (T1D) y DM tipo 2 (T2D). La T1D es el resultado de la incapacidad del organismo para producir insulina y requiere la administración diaria de insulina al paciente. La T2D resulta de la resistencia a la insulina, una condición en la cual las células no pueden usar la insulina adecuadamente. Hay muchas terapias sin insulina aprobadas para la T2D. Sin embargo, hay una gran parte de pacientes con T2D en fase tardía que precisan la administración de insulina debido a la pérdida de la función de las células β a medida que progresa la enfermedad.

El desarrollo de la diabetes está asociado con pérdidas sustanciales de masa de los islotes pancreáticos. En el momento del diagnóstico, más del 90% de la masa de los islotes se había perdido en pacientes con T1D, y aproximadamente el 50% se había perdido en pacientes con T2D. Se han realizado muchos intentos en busca de un estímulo potencial para la neogénesis insular (o neogénesis de islotes), que se considera como el tratamiento óptimo tanto para T1D como para T2D.

Recientemente los investigadores han demostrado que la proteína asociada a la neogénesis insular (INGAP) procedente del hámster, el péptido prolslet humano (HIP), el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1), neuropéptido endocrino del islote, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), el factor de crecimiento epidérmico y la gastrina, y otros, son capaces de inducir células parentales pancreáticas, ubicadas en la fracción no endocrina del páncreas, para diferenciarse en islotes completamente funcionales en varios modelos animales. Entre estos compuestos, se ha demostrado que el péptido INGAP (INGAP-PP), un péptido de 15 aminoácidos (15-mero) derivado de la secuencia de INGAP en los aminoácidos 104 - 118, induce la neogénesis de los islotes en múltiples modelos animales, revierte la diabetes inducida por estreptozotocina (STZ) en ratones, aumenta la secreción de péptido C en pacientes con T1D y mejora el control glucémico en pacientes con T2D. Se han reseñado efectos biológicos adicionales de INGAP-PP, incluyendo la estimulación dependiente de la dosis de la expansión de la masa de células β , la replicación de las células β , la reducción de la apoptosis de las células β y el aumento de la secreción de insulina. En estudios con seres humanos, hubo un efecto con una mejoría de la homeostasis de la glucosa, confirmada por la reducción de HbA1c a los 90 días en pacientes con T2D, y por un aumento significativo de la secreción de péptido C en pacientes con T1D. Sin embargo, la corta vida mitad en plasma de INGAP-PP y la necesidad de administración en dosis alta tienen aplicaciones clínicas de este péptido significativamente limitadas.

El HIP, el péptido bioactivo codificado por una porción del gen 3 alfa derivado de los islotes de regeneración humanos (REG3A), es el homólogo humano del péptido INGAP. Estudios previos han demostrado que el tratamiento de los tejidos ductales pancreáticos humanos con HIP estimuló la producción de insulina. La administración de HIP mejoró el control glucémico y aumentó el número de islotes en ratones diabéticos. La forma estabilizada de HIP ha sido probada en un ensayo clínico de dosis única ascendente con el objetivo de explorar la tolerabilidad, la seguridad y la farmacocinética. Al igual que INGAP-PP, se requiere una alta dosis de HIP, lo que limita significativamente las aplicaciones clínicas del péptido de HIP original.

El documento WO 2009/049222 A1 enseña métodos y composiciones relacionadas con el uso del Receptor del Péptido prolslet Humano (HIP), en donde las composiciones incluyen péptidos y péptidomiméticos capaces de unirse a los receptores de HIP, y los métodos incluyen ensayos de cribado para ligandos de receptores y proteínas implicadas en la señalización de las células insulares.

Por tanto, existe la necesidad de desarrollar fármacos adicionales para el tratamiento de la diabetes u otras enfermedades asociadas con la alteración de la función pancreática. La presente invención aborda esta necesidad y también proporciona ventajas relacionadas.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona un péptido o análogo del mismo que comprende o consiste en una secuencia elegida entre el grupo que consiste en

Ac-IGLHDP SHGTLPAGS (SEQ ID NO:12);
 IGLHDP SHGTLPAGS (SEQ ID NO:7); IGLHDP SHGTLPAG (SEQ ID NO:73);
 IGLHDP SHGTLPAGSK (SEQ ID NO:9); IGLHDP SHGTLP(Aib)GS (SEQ ID NO:10);
 IGLHDP SHGTLP(N-methyl-L-Ala)GS (SEQ ID NO:11); (D-Ile)GLHDP SHGTLPAGS
 (SEQ ID NO:13); (L-NorVal)GLHDP SHGTLPAGS (SEQ ID NO:14); (L-
 NorLeu)GLHDP SHGTLPAGS (SEQ ID NO:15); IGLHDP SHGTLPAG-NH2 (SEQ ID
 NO:28); Ac-IGLHDP SHGTLPAGS-NH2 (SEQ ID NO:29); Ac-IGLHDP SHGTLPAG-NH2
 (SEQ ID NO:30); IGLHDP SHGT LPAGS-NH2 (SEQ ID NO:41); IGLHDP SHGTLPAGSC
 (SEQ ID NO:42); Ac-IGLHDP SHGTLPAGSC (SEQ ID NO:43); IGLHDP SHGTLPAGSC-
 NH2 (SEQ ID NO:44); Ac-IGLHDP SHGTLPAGSC-NH2 (SEQ ID NO:45);
 IGLHDP SHGTLPAGC (SEQ ID NO:46); Ac-IGLHDP SHGTLPAGC (SEQ ID NO:47);
 IGLHDP SHGTLPAGC-NH2 (SEQ ID NO:48); Ac-IGLHDP SHGTLPAGC-NH2 (SEQ ID
 NO:49); IGLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:50); IGLHDPTQGTEP(Aib)GE (SEQ ID
 NO:51); Ac-IGLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:52); y (D-Ile)GLHDPTQGTEPAGE
 (SEQ ID NO:53).

En una realización, el péptido o análogo comprende una modificación en donde la modificación se elige entre un término N acetilado, un término C amidado, un aminoácido D, una modificación de ácido graso, una esterificación o una combinación de los mismos.

5 En una realización, el péptido o análogo tiene una longitud de 20 aminoácidos o menos.

También se proporciona en el presente documento una composición que comprende el péptido o análogo de la invención, en donde la composición puede comprender además un vehículo aceptable farmacéuticamente.

10 La presente invención proporciona también un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para (i) tratar una función pancreática alterada o mejorar una señal o un síntoma asociado con una función pancreática alterada; (ii) tratar una enfermedad metabólica o mejorar una señal o un síntoma asociado con una enfermedad metabólica; (iii) estimular el crecimiento de células de los islotes pancreáticos; (iv) producir una población de células de los islotes pancreáticos; (v) aumentar el número de células de los islotes pancreáticos en un sujeto; (vi) promover la neuroprotección o regeneración nerviosa; (vii) promover la regeneración hepática; (viii) inhibir la inflamación; o (ix) tratar a un paciente humano con una pancreatomectomía parcial; en donde dicha función pancreática puede ser diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA), glucosa en ayunas alterada, tolerancia a la glucosa alterada, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, o nivel de insulina en ayunas alterado, o una combinación de las mismas; o en donde dicha enfermedad metabólica es diabetes, pre-diabetes o síndrome metabólico.

20 En una realización, un péptido o análogo de la invención es para uso en el método para mejorar una señal o un síntoma asociado con una función pancreática alterada comprende además administrar un fármaco antidiabético.

25 En otra realización, el péptido o análogo o la composición de la invención es para uso en un método para el tratamiento o la reducción de una condición en un sujeto diabético, en donde la condición se elige entre el grupo que consiste en tolerancia a la glucosa alterada, glucosa en sangre elevada, glucosa en sangre en ayunas elevada, glucosa en sangre post-prandial elevada, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, niveles de insulina en ayunas alterados, hemoglobina glicosilada (HbA1c), péptido C estimulado por arginina (AUC), o una combinación de los mismos.

La presente invención proporciona también un método para estimular el crecimiento celular de los islotes pancreáticos *in vitro*, en donde el método comprende poner en contacto una célula insular pancreática con un péptido o análogo de la invención, con lo que se estimula la proliferación de la célula del islote pancreático.

30 La presente invención proporciona también un método para producir una población de células del islote pancreático *in vitro*, en donde el método comprende poner en contacto una o más células del islote pancreático con un péptido o análogo de la invención, con lo que se estimula la proliferación de la célula o las células del islote pancreático y se produce una población de células del islote pancreático, opcionalmente en donde la célula o las células del islote pancreático son obtenidas de un sujeto.

La presente invención proporciona además un método para promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa *in vitro*, que comprende poner en contacto una célula nerviosa con un péptido o un análogo de la invención.

La presente invención proporciona además un método para promover la regeneración hepática *in vitro*, que comprende poner en contacto una célula hepática con un péptido o un análogo de la invención.

5 Los péptidos y análogos se pueden usar para tratar diversas enfermedades y condiciones asociadas con la función pancreática alterada, para el tratamiento de enfermedades metabólicas que incluyen diabetes, diabetes tanto del tipo 1 como del tipo 2, prediabetes y síndrome metabólico. Los péptidos y análogos también se pueden usar para la inducción de islotes, la expansión y proliferación para el trasplante, promoción de la neuroprotección, promoción de la regeneración nerviosa, promoción de la regeneración hepática, e inhibición de la inflamación.

10 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la comparación de la proliferación de células ARIP (una línea de células ductales pancreáticas de rata) en presencia de 100 nM de péptido INGAP *Scrambled* PP 1 (Péptido de Referencia 3), INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y un análogo de péptido seleccionado, Péptido 7 (véase Tabla 2).

15 La figura 2 muestra una comparación de estabilidad en el medio de cultivo de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptidos seleccionados, Péptido 7 y Péptido de Referencia 8 (véase la Tabla 2).

La figura 3 muestra una comparación de estabilidad en plasma de ratón de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 12, Péptido de Referencia 16 y Péptido 29 (véase la Tabla 2).

La figura 4 muestra una comparación de estabilidad en plasma humano de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptidos seleccionados, Péptido 12 y Péptido de Referencia 16 (véase la Tabla 2).

20 La figura 5 muestra una comparación de estabilidad en plasma de ratón de HIP (Péptido de Referencia 2) y análogos de péptidos seleccionados, Péptido 52 y Péptido de Referencia 54 (véase la Tabla 3).

25 Las figuras 6A - 6C muestran la comparación de la eficacia de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1), INGAP *Scrambled* PP 1 (Péptido de Referencia 3) y un análogo de péptido seleccionado, Péptido 7 (véase la Tabla 2) en el modelo de ratones diabéticos inducidos por STZ. Figura 6A: glucosa en sangre (BG) después del tratamiento de 21 días; figura 6B: niveles de insulina en ayunas después de 21 días de tratamiento; figura 6C: área bajo la curva (AUC) de la glucosa medida en la prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) después de 21 días de tratamiento.

La figura 7 muestra el número de islotes definidos por rangos de área (unidades morfométricas arbitrarias) para campos seleccionados aleatoriamente iguales ($n \geq 7$) para animales tratados con naive y Péptido de Referencia 3, Péptido de Referencia 1 o Péptido 7.

30 La figura 8 muestra el aumento de la secreción de insulina estimulada por glucosa de los islotes con o sin la coincubación de péptidos seleccionados (10 $\mu\text{g/mL}$), Péptido 12, Péptido de Referencia 16 y Péptido de Referencia 1 (véase la Tabla 2). La coincubación con 100 nM de péptido-1 similar al glucagón (GLP-1) se incluyó como control positivo.

35 Las figuras 9A - 9C muestran el efecto biológico de la administración de INGAP-PP o análogos de INGAP-PP. La figura 9A muestra el número de racimos de islotes extra (extra islet cluster: EIC) en ratones C57BL/6J hembra después de 10 días de tratamiento. La figura 9B muestra el área total de EIC en ratones C57BL/6J hembra después de 10 días de tratamiento. La figura 9C muestra un EIC asociado ductal representativo en el páncreas después de la administración de péptido INGAP-PP o análogo de INGAP-PP. El Péptido 1, el Péptido 16 y el Péptido 31 son péptidos de referencia.

40 La figura 10 muestra el efecto del péptido INGAP-PP y análogos de INGAP-PP sobre la neogénesis de los islotes, como se refleja en la distribución del tamaño de los islotes pancreáticos. El Péptido 1 y el Péptido 31 son péptidos de referencia.

La figura 11 muestra la estabilidad de INGAP-PP y los análogos de INGAP-PP en el medio de cultivo. El Péptido 1 y el Péptido 16 son péptidos de referencia.

45 La figura 12 muestra la estabilidad de INGAP-PP y los análogos de INGAP-PP en plasma de rata. El Péptido 1, el Péptido 16 y el Péptido 31 son péptidos de referencia.

La figura 13 muestra la estabilidad de HIP y análogos de HIP en plasma de rata. El Péptido 2 y el Péptido 62 son péptidos de referencia.

La figura 14 de Referencia muestra la estabilidad de INGAP-PP y análogo de INGAP-PP en plasma de ratón.

La figura 15 de Referencia muestra la estabilidad de INGAP-PP y de los análogos de INGAP-PP en plasma humano.

La figura 16 de Referencia muestra una curva de liberación de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) representativa *in vitro* del hidrogel que contiene Pluronic F127.

5 La figura 17 de Referencia muestra una curva de liberación de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) representativa *in vitro* del hidrogel que contiene Jeffamine ED-2003.

La figura 18 de Referencia muestra una curva de liberación de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) representativa *in vitro* del sistema de gel SABER.

Descripción detallada de la invención

10 La presente invención proporciona compuestos, en particular péptidos y análogos de péptidos de la invención, que muestran propiedades útiles para el tratamiento de una variedad de enfermedades y afecciones, particularmente enfermedades y afecciones relacionadas con la diabetes. Los péptidos y análogos de la invención son además útiles para el tratamiento de una función pancreática alterada, el tratamiento de enfermedades metabólicas, la inducción de islotes *ex vivo*, la expansión y proliferación para el trasplante, aumentando la supervivencia de los islotes trasplantados *in vivo*, promoviendo la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promoviendo la regeneración hepática e inhibiendo la inflamación.

20 Como se describe en el presente documento, la presente invención proporciona una serie de análogos de INGAP-PP y de HIP de la invención con estabilidad y actividad comparables o mejoradas en comparación con los péptidos de tipo silvestre (véanse las Tablas 2 y 3). Las propiedades farmacéuticas de estos análogos de péptido mejoradas hacen que sean particularmente adecuados para el desarrollo clínico. La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de acuerdo con la presente invención y el uso de compuestos de acuerdo con la presente invención para preparar medicamentos para el tratamiento de enfermedades metabólicas, que incluyen, pero sin limitarse a ellas, la diabetes tipo 1 (T1D) y la diabetes tipo 2 (T2D). La invención proporciona además las composiciones de la invención en formulaciones adecuadas, incluyendo las formulaciones de liberación sostenida.

25 Como se describió anteriormente, se identificó una proteína de hámster que promovía la neogénesis de los islotes pancreáticos y se la denominó proteína asociada a la neogénesis de los islotes o neogénesis insular (Islet Neogenesis Associated Protein: INGAP) (véase la patente de EE. UU. nº 5.834.590). Se ha descrito un fragmento de pentadecapéptido de INGAP, denominado en este documento INGAP-PP, y se ha demostrado que revierte la diabetes en un modelo de ratón (Rosenberg et al., *Ann. Surg.* 240: 875 - 884 (2004); publicación de EE. UU. 2006/0009516; véase también la publicación de EE.UU. 2008/0171704; Kapur et al., *Islets* 4: 1 - 9 (2012); Chang et al., *Mol. Cell. Endocrinol.* 335: 104 - 109 (2011); Borelli et al., *Regulatory Peptides* 131: 97 - 102 (2005); Dungan y otros, *Diabetes/Metabolism Res. Rev.* 25: 558 - 565 (2009); Zha y otros, *J. Endocrinol. Invest.* 35: 634 - 639 (2012); Wang et al., *J. Cell. Physiol.* 224: 501 - 508 (2010); Petropavlovskaja et al., *J. Endocrinol.* 191: 65 - 81 (2006); Taylor-Fishwick et al., *Pancreas* 39: 64 - 70 (2010); Rosenberg, *Diabetologia* 39: 256 - 262 (1996); Madrid et al., *Regulatory Peptides* 157: 25 - 31 (2009); y Taylor-Fishwick et al., *J. Endocrinol.* 190: 729 - 737 (2006)). También se ha descrito un péptido humano denominado péptido proislet humano (HIP) (Levetan et al., *Endocrin. Pract.* 14: 1075 - 1083 (2008); publicación de EE.UU. 2011/0280833). La presente invención proporciona análogos de los péptidos INGAP-PP y HIP de la invención, que no son péptidos INGAP-PP o HIP parentales. Los péptidos y análogos de la invención exhiben propiedades inesperadas y beneficiosas sobre los péptidos INGAP-PP o HIP parentales.

40 Como se usa en el presente documento, el término "péptido" se refiere a un polímero de dos o más aminoácidos. El péptido puede modificarse para incluir análogos, derivados, miméticos funcionales, pseudopéptidos y similares, siempre y cuando el péptido comprenda un polímero de al menos dos aminoácidos. El significado del término "péptido" es bien conocido por los expertos en la técnica. En general, un péptido incluye dos o más aminoácidos unidos por un enlace amida entre el grupo carboxilo de un resto de aminoácido y el grupo amino del resto de aminoácido adyacente. Como se describe en el presente documento, un péptido puede comprender aminoácidos de origen natural o aminoácidos de origen no natural.

50 Como se usa en el presente documento, el término "análogo" puede incluir una modificación de un péptido parental en donde la modificación se refiere a aminoácidos no naturales, aminoácidos D, aminoácidos modificados amino- y/o carboxi-terminales (N o C terminales), en modificaciones particulares del grupo amino en el extremo N y/o modificación del grupo carboxilo en el extremo C, modificaciones de ácidos grasos, esterificación, peptidomiméticos, pseudopéptidos y similares, como se describe en el presente documento. A continuación se describen ejemplos de modificaciones con más detalle.

55 Como se usa en el presente documento, la frase "función pancreática alterada" se refiere a una enfermedad o afección asociada con el páncreas, donde el páncreas muestra una función disminuida en comparación con la de un individuo normal o sano. Las enfermedades o condiciones ejemplares asociadas con la función pancreática alterada incluyen, entre otras, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA), glucosa en ayunas

alterada, tolerancia a la glucosa alterada, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, niveles de insulina en ayunas alterados, pancreatoclectomía parcial debida a una lesión o inflamación, o una combinación de los mismos. Tales enfermedades y condiciones se discuten con más detalle a continuación.

5 Como se describe en el presente documento, la invención proporciona análogos peptídicos de péptidos INGAP-PP y HIP de la invención. La Tabla 1 muestra la secuencia de los péptidos INGAP-PP y HIP, así como varias versiones revueltas de los péptidos que se utilizan como controles negativos en los experimentos descritos en este documento o que se pueden usar como controles negativos en estudios comparativos con INGAP-PP, HIP o análogos de péptidos de la invención.

Tabla 1 (*). Péptidos INGAP-PP y HIP y péptidos testigo revueltos.

ID del Péptido/SEQ ID N°:	Secuencia
1	H-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
2	H-IGLHDPTQGTEPNGE-OH
3	H-SHPNG SGTIG LHDPL-OH
4	H-SSTGG GDIPP HLLHN-OH
5	H-DGGTP QPGNWIELTH-OH

* La Tabla 1 contiene solamente secuencias de péptido de referencia.

Como se describe en el presente documento, se proporcionan diversos análogos de INGAP-PP como péptidos o análogos de la invención. Los ejemplos de análogos de péptidos INGAP-PP de la invención (marcados con [**]) se proporcionan en la Tabla 2 (las secuencias no marcadas de la Tabla 2 se describen como referencia).

Tabla 2. Ejemplos de análogos de INGAP-PP.

ID del Péptido / SEQ ID N°	Secuencia
1	H-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
6	H-IGLHAPSHGTLPNGS-OH
7	H-IGLHDPSHGTLPAGS-OH [**]
8	H-IGLHAPSHGTLPAGS-OH
9	H-IGLHDPSHGTLPAGSK-OH [**]
10	H-IGLHDPSHGTLP(Aib) GS-OH [**]
11	H-IGLHDPSHGTLP (N-metil-L-alanina) GS-OH [**]
12	Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-OH [**]
13	H- (D-Isoleucina) GLHDPSHGTLPAGS -OH [**]
14	H- (L-NorValina) GLHDPSHGTLPAGS -OH [**]
15	H- (L-NorLeucina) GLHDPSHGTLPAGS -OH [**]
16	Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
17	H-(D-Isoleucina) GLHDPSHGTLPNGS -OH
18	H-IGLHDPSHGTLPNGS-OH
19	H-IGLHDPSQGTLPNGS-OH
20	H-IGLHDPTHGTLPNGS-OH
21	H-IGLHDPSHGTLPNGE-OH
22	H-IGLHDPSHGTLPNGK-OH
23	H-IGLHDPSHGTLPAGK-OH
24	H-IGLHDPSHGTLPAGS-OH
25	H-IGLHDPSQGTLPAGS-OH
26	H-IGLHDPTHGTLPAGS-OH
27	H-IGLHDPSHGTLPAGE-OH
28	H-IGLHDPSHGTLPAG-NH2 [**]
29	Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-NH2 [**]
30	Ac-IGLHDPSHGTLPAG-NH2 [**]
31	Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH2
32	H-IGLHDPSHGTLPNGS-NH2
33	H-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH
34	Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-OH
35	H-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH2
36	Ac-IGLHDPSHGTLPNGSC-NH2
37	H-IGLHDPSHGTLPNGC-OH
38	Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-OH
39	H-IGLHDPSHGTLPNGC-NH2
40	Ac-IGLHDPSHGTLPNGC-NH2

41	H-IGLHDPSHGTLPAGS-NH2 ^[**]
42	H-IGLHDPSHGTLPAGSC-OH ^[**]
43	Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-OH ^[**]
44	H-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH2 ^[**]
45	Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH2 ^[**]
46	H-IGLHDPSHGTLPAGC-OH ^[**]
47	Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-OH ^[**]
48	H-IGLHDPSHGTLPAGC-NH2 ^[**]
49	Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-NH2 ^[**]
73	IGLHDPSHGTLPAG
74	IGLHDPSHGTLPNG
75	Ac-IGLHDPSHGTLPNG
76	IGLHDPSHGTLPNG-NH2
77	Ac-IGLHDPSHGTLPNG-NH2
78	H-IGLHDPSHGTLPQGS-OH
79	H-IGLHDPSHGTLPDGS-OH
80	H-IGLHDPSHGTLPESG-OH
81	H-IGLHEPSHGTLPNGS-OH
82	H-IGLHQPSHGTLPNGS-OH
83	H-IGLHNPSHGTLPNGS-OH
84	H-IGLHEPSHGTLPAGS-OH
85	H-IGLHQPSHGTLPAGS-OH
86	H-IGLHNPSHGTLPAGS-OH
87	H-IGLHDPSHGTLPQGSC-OH
88	H-IGLHDPSHGTLPDGSC-OH
89	H-IGLHDPSHGTLPESGSC-OH
90	H-IGLHEPSHGTLPNGSC-OH
91	H-IGLHQPSHGTLPNGSC-OH
92	H-IGLHNPSHGTLPNGSC-OH
93	H-IGLHDPSHGTLPQG-OH
94	H-IGLHDPSHGTLPDG-OH
95	H-IGLHDPSHGTLPESG-OH
96	H-IGLHEPSHGTLPNG-OH
97	H-IGLHQPSHGTLPNG-OH
98	H-IGLHNPSHGTLPNG-OH
99	H-IGLHEPSHGTLPAG-OH
100	H-IGLHQPSHGTLPAG-OH
101	H-IGLHNPSHGTLPAG-OH
102	H-IGLHDPSHGTLPQGE-OH
103	H-IGLHDPSHGTLPDGE-OH
104	H-IGLHDPSHGTLPESGE-OH
105	H-IGLHEPSHGTLPNGE-OH
106	H-IGLHQPSHGTLPNGE-OH
107	H-IGLHNPSHGTLPNGE-OH
108	H-IGLHEPSHGTLPAGE-OH
109	H-IGLHQPSHGTLPAGE-OH
110	H-IGLHNPSHGTLPAGE-OH

Como se describe en el presente documento, se proporcionan diversos análogos de HIP como péptidos o análogos de la invención. En la Tabla 3 se proporcionan ejemplos de análogos de péptidos HIP de la invención (* = como referencia).

5

Tabla 3. Ejemplos de Análogos de HIP.

ID del Péptido / SEQ ID N°:	Secuencia
2	H-IGLHDPTQGTEPNGE-OH *
50	H-IGLHDPTQGTEPAGE-OH
51	H- IGLHDPTQGTEP(Aib)GE-OH
52	Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-OH
53	H- (D-Isoleucina) GLHDPTQGTEPAGE -OH
54	Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-OH *
55	H- (D-Isoleucina) GLHDPTQGTEPNGE -OH *

56	H-IGLHDPTQGTEPNNGS-OH *
57	H-IGLHDPTQGTEPAGS-OH *
58	H-IGLHDPTQGTLPNGE-OH *
59	H-IGLHDPTQGTLPAGE-OH *
60	Ac-IGLHDPTQGTEPAG-NH2 *
61	Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-NH2 *
62	Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-NH2 *
63	H-IGLHDPTQGTEPNGE-NH2 *
64	H-IGLHDPTQGTEPNGC-OH *
65	Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-OH *
66	H-IGLHDPTQGTEPNGC-NH2 *
67	Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-NH2 *
68	H-IGLHDPTQGTEPAGE-NH2 *
69	H-IGLHDPTQGTEPAGC-OH *
70	Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-OH *
71	H-IGLHDPTQGTEPAGC-NH2 *
72	Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-NH2 *

La invención proporciona péptidos o análogos de los mismos que son análogos de INGAP-PP de la invención. En una realización, la invención proporciona un péptido o un análogo del mismo que comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en IGLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 7); e IGLHDPSHGTL P AG (SEC ID N°: 73). Por ejemplo, el péptido o análogo puede comprender un péptido o análogo seleccionado entre: IGLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 7); IGLHDPSHGTL P AG (SEC ID N°: 73); IGLHDPSHGTL P AGSK (SEC ID N°: 9); IGLHDPSHGTL P (Aib)GS (SEC ID N°: 10); IGLHDPSHGTL P (N-metil-L-Ala)GS (SEC ID N°: 11); Ac-IGLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 12); (D-Ile)GLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 13); (L-NorVal) GLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 14); (L-NorLeu) GLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 15); IGLHDPSHGTL P AG-NH2 (SEC ID N°: 28); Ac-IGLHDPSHGTL P AGS-NH2 (SEC ID N°: 29); Ac-IGLHDPSHGTL P AG-NH2 (SEC ID N°: 30); IGLHDPSHGTL P AGS-NH2 (SEC ID N°: 41); IGLHDPSHGTL P AGSC (SEC ID N°: 42); Ac-IGLHDPSHGTL P AGSC (SEC ID N°: 43); IGLHDPSHGTL P AGSC-NH2 (SEC ID N°: 44); Ac-IGLHDPSHGTL P AGSC-NH2 (SEC ID N°: 45); IGLHDPSHGTL P AGC (SEC ID N°: 46); Ac-IGLHDPSHGTL P AGC (SEC ID N°: 47); IGLHDPSHGTL P AGC-NH2 (SEC ID N°: 48); y Ac-IGLHDPSHGTL P AGC-NH2 (SEC ID N°: 49).

En una realización en particular, el péptido o su análogo puede consistir en: IGLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 7); IGLHDPSHGTL P AG (SEC ID N°: 73); IGLHDPSHGTL P AGSK (SEC ID N°: 9); IGLHDPSHGTL P (Aib) GS (SEC ID N°: 10); IGLHDPSHGTL P (N-metil-L-Ala) GS (SEC ID N°: 11); Ac-IGLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 12); (D-Ile) GLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 13); (L-NorVal) GLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 14); (L-NorLeu) GLHDPSHGTL P AGS (SEC ID N°: 15); IGLHDPSHGTL P AG-NH2 (SEC ID N°: 28); Ac-IGLHDPSHGTL P AGS-NH2 (SEC ID N°: 29); Ac-IGLHDPSHGTL P AG-NH2 (SEC ID N°: 30); IGLHDPSHGTL P AGS-NH2 (SEC ID N°: 41); IGLHDPSHGTL P AGSC (SEC ID N°: 42); Ac-IGLHDPSHGTL P AGSC (SEC ID N°: 43); IGLHDPSHGTL P AGSC-NH2 (SEC ID N°: 44); Ac-IGLHDPSHGTL P AGSC-NH2 (SEC ID N°: 45); IGLHDPSHGTL P AGC (SEC ID N°: 46); Ac-IGLHDPSHGTL P AGC (SEC ID N°: 47); IGLHDPSHGTL P AGC-NH2 (SEC ID N°: 48); o Ac-IGLHDPSHGTL P AGC-NH2 (SEC ID N°: 49).

En un ejemplo se describen análogos de INGAP-PP adicionales. En particular, en el presente texto se describe un péptido o un análogo del mismo que comprende un péptido o análogo seleccionados entre el grupo consistente en: Ac-IGLHDPSHGTL P NG S (SEC ID N°: 16); (D-Ile)GLHDPSHGTL P NG S (SEC ID N°: 17); Ac-IGLHDPSHGTL P NG S-NH2 (SEC ID N°: 31); IGLHDPSHGTL P NG S-NH2 (SEC ID N°: 32); IGLHDPSHGTL P NGSC (SEC ID N°: 33); Ac-IGLHDPSHGTL P NGSC (SEC ID N°: 34); IGLHDPSHGTL P NGSC-NH2 (SEC ID N°: 35); Ac-IGLHDPSHGTL P NGSC-NH2 (SEC ID N°: 36); IGLHDPSHGTL P NGC (SEC ID N°: 37); Ac-IGLHDPSHGTL P NGC (SEC ID N°: 38); IGLHDPSHGTL P NGC-NH2 (SEC ID N°: 39); Ac-IGLHDPSHGTL P NGC-NH2 (SEC ID N°: 40); IGLHDPSHGTL P NG (SEC ID N°: 74); Ac-IGLHDPSHGTL P NG (SEC ID N°: 75); IGLHDPSHGTL P NG-NH2 (SEC ID N°: 76); Ac-IGLHDPSHGTL P NG-NH2 (SEC ID N°: 77); H-IGLHDPSHGTL P QGS-OH (SEC ID N°: 78); H-IGLHDPSHGTL P DGS-OH (SEC ID N°: 79); H-IGLHDPSHGTL P EGS-OH (SEC ID N°: 80); H-IGLHEPSHGTL P NG S-OH (SEC ID N°: 81); H-IGLHQPSHGTL P NG S-OH (SEC ID N°: 82); H-IGLHNPSHGTL P NG S-OH (SEC ID N°: 83); H-IGLHEPSHGTL P AGS-OH (SEC ID N°: 84); H-IGLHQPSHGTL P AGS-OH (SEC ID N°: 85); H-IGLHNPSHGTL P AGS-OH (SEC ID N°: 86); H-IGLHDPSHGTL P QGSC-OH (SEC ID N°: 87); H-IGLHDPSHGTL P DGSC-OH (SEC ID N°: 88); H-IGLHDPSHGTL P EGSC-OH (SEC ID N°: 89); H-IGLHEPSHGTL P NGSC-OH (SEC ID N°: 90); H-IGLHQPSHGTL P NGSC-OH (SEC ID N°: 91); H-IGLHNPSHGTL P NGSC-OH (SEC ID N°: 92); H-IGLHDPSHGTL P QG-OH (SEC ID N°: 93); H-IGLHDPSHGTL P DG-OH (SEC ID N°: 94); H-IGLHDPSHGTL P EG-OH (SEC ID N°: 95); H-IGLHEPSHGTL P NG-OH (SEC ID N°: 96); H-IGLHQPSHGTL P NG-OH (SEC ID N°: 97); H-IGLHNPSHGTL P NG-OH (SEC ID N°: 98); H-IGLHEPSHGTL P AG-OH (SEC ID N°: 99); H-IGLHQPSHGTL P AG-OH (SEC ID N°: 100); H-IGLHNPSHGTL P AG-OH (SEC ID N°: 101); H-IGLHDPSHGTL P QGE-OH (SEC ID N°: 102); H-IGLHDPSHGTL P DGE-OH (SEC ID N°: 103); H-IGLHDPSHGTL P EGE-OH (SEC ID N°: 104); H-IGLHEPSHGTL P NGE-OH (SEC ID N°: 105); H-IGLHQPSHGTL P NGE-OH (SEC ID N°: 106); H-IGLHNPSHGTL P NGE-OH (SEC ID N°: 107); H-

IGLHEPSHGTLPAGE-OH (SEC ID N°: 108); H-IGLHQPSHGTLPAGE-OH (SEC ID N°: 109); y H-IGLHNPSHGTLPAGE-OH (SEC ID N°: 110).

En un ejemplo particular, el péptido o el análogo del mismo consiste en: Ac-IGLHDP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 16); (D-Ile)GLHDP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 17); Ac-IGLHDP SHGTLPNGS-NH₂ (SEC ID N°: 31); IGLHDP SHGTLPNGS-NH₂ (SEC ID N°: 32); IGLHDP SHGTLPNGSC (SEC ID N°: 33); Ac-IGLHDP SHGTLPNGSC (SEC ID N°: 34); IGLHDP SHGTLPNGSC-NH₂ (SEC ID N°: 35); Ac-IGLHDP SHGTLPNGSC-NH₂ (SEC ID N°: 36); IGLHDP SHGTLPNGC (SEC ID N°: 37); Ac-IGLHDP SHGTLPNGC (SEC ID N°: 38); IGLHDP SHGTLPNGC-NH₂ (SEC ID N°: 39); Ac-IGLHDP SHGTLPNGC-NH₂ (SEC ID N°: 40); IGLHDP SHGTLPNG (SEC ID N°: 74); Ac-IGLHDP SHGTLPNG (SEC ID N°: 75); IGLHDP SHGTLPNG-NH₂ (SEC ID N°: 76); Ac-IGLHDP SHGTLPNG-NH₂ (SEC ID N°: 77); H-IGLHDP SHGTLPQGS-OH (SEC ID N°: 78); H-IGLHDP SHGTLPDGS-OH (SEC ID N°: 79); H-IGLHDP SHGTLPESG-OH (SEC ID N°: 80); H-IGLHEP SHGTLPNGS-OH (SEC ID N°: 81); H-IGLHQP SHGTLPNGS-OH (SEC ID N°: 82); H-IGLHNPSHGTLPNGS-OH (SEC ID N°: 83); H-IGLHEP SHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 84); H-IGLHQP SHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 85); H-IGLHNPSHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 86); H-IGLHDP SHGTLPQGSC-OH (SEC ID N°: 87); H-IGLHDP SHGTLPDQSC-OH (SEC ID N°: 88); H-IGLHDP SHGTLPESGSC-OH (SEC ID N°: 89); H-IGLHEP SHGTLPNGSC-OH (SEC ID N°: 90); H-IGLHQP SHGTLPNGSC-OH (SEC ID N°: 91); H-IGLHNPSHGTLPNGSC-OH (SEC ID N°: 92); H-IGLHDP SHGTLPQG-OH (SEC ID N°: 93); H-IGLHDP SHGTLPDQ-OH (SEC ID N°: 94); H-IGLHDP SHGTLPESG-OH (SEC ID N°: 95); H-IGLHEP SHGTLPNG-OH (SEC ID N°: 96); H-IGLHQP SHGTLPNG-OH (SEC ID N°: 97); H-IGLHNPSHGTLPNG-OH (SEC ID N°: 98); H-IGLHEP SHGTLPAG-OH (SEC ID N°: 99); H-IGLHQP SHGTLPAG-OH (SEC ID N°: 100); H-IGLHNPSHGTLPAG-OH (SEC ID N°: 101); H-IGLHDP SHGTLPQGE-OH (SEC ID N°: 102); H-IGLHDP SHGTLPDGE-OH (SEC ID N°: 103); H-IGLHDP SHGTLPESG-OH (SEC ID N°: 104); H-IGLHEP SHGTLPNGE-OH (SEC ID N°: 105); H-IGLHQP SHGTLPNGE-OH (SEC ID N°: 106); H-IGLHNPSHGTLPNGE-OH (SEC ID N°: 107); H-IGLHEP SHGTLPAGE-OH (SEC ID N°: 108); H-IGLHQP SHGTLPAGE-OH (SEC ID N°: 109); o H-IGLHNPSHGTLPAGE-OH (SEC ID N°: 110).

En el presente documento se describen otros análogos de péptidos INGAP-PP. En otra realización más, la invención proporciona un péptido o un análogo del mismo que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: IGLHAP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 6); IGLHAP SHGTLPAGS (SEC ID N°: 8); IGLHDP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 18); IGLHDP SQGTLPNGS (SEC ID N°: 19); IGLHDP THGTLPNGS (SEC ID N°: 20); IGLHDP SHGTLPNGE (SEC ID N°: 21); IGLHDP SHGTLPNGK (SEC ID N°: 22); IGLHDP SHGTLPAGK (SEC ID N°: 23); IGLHDP SHGTLPAGS (SEC ID N°: 24); IGLHDP SQGTLPAGS (SEC ID N°: 25); e IGLHDP THGTLPAGS (SEC ID N°: 26); IGLHDP SHGTLPAGE (SEC ID N°: 27).

Por ejemplo, en el presente texto se describe un péptido o análogo del mismo que comprende un péptido o análogo seleccionado entre: IGLHAP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 6); IGLHAP SHGTLPAGS (SEC ID N°: 8); IGLHDP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 18); IGLHDP SQGTLPNGS (SEC ID N°: 19); IGLHDP THGTLPNGS (SEC ID N°: 20); IGLHDP SHGTLPNGE (SEC ID N°: 21); IGLHDP SHGTLPNGK (SEC ID N°: 22); IGLHDP SHGTLPAGK (SEC ID N°: 23); IGLHDP SHGTLPAGS (SEC ID N°: 24); IGLHDP SQGTLPAGS (SEC ID N°: 25); IGLHDP THGTLPAGS (SEC ID N°: 26); y IGLHDP SHGTLPAGE (SEC ID N°: 27). En otro ejemplo, en el presente texto se describe un péptido o un análogo del mismo que consiste en: IGLHAP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 6); IGLHAP SHGTLPAGS (SEC ID N°: 8); IGLHDP SHGTLPNGS (SEC ID N°: 18); IGLHDP SQGTLPNGS (SEC ID N°: 19); IGLHDP THGTLPNGS (SEC ID N°: 20); IGLHDP SHGTLPNGE (SEC ID N°: 21); IGLHDP SHGTLPNGK (SEC ID N°: 22); IGLHDP SHGTLPAGK (SEC ID N°: 23); IGLHDP SHGTLPAGS (SEC ID N°: 24); IGLHDP SQGTLPAGS (SEC ID N°: 25); IGLHDP THGTLPAGS (SEC ID N°: 26); o IGLHDP SHGTLPAGE (SEC ID N°: 27).

La invención proporciona adicionalmente análogos de HIP de la invención. En una realización de la invención, la invención proporciona un péptido o un análogo del mismo que comprende la secuencia IGLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 50). En una realización de la invención, el péptido o el análogo pueden comprender un péptido o análogo seleccionado de: IGLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 50); IGLHDPTQGTEP(Aib)GE (SEC ID N°: 51); Ac-IGLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 52); y (D-Ile)GLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 53). Otros análogos de HIP descritos en el presente texto son: Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-NH₂ (SEC ID N°: 60); Ac-IGLHDPTQGTEPAGE-NH₂ (SEC ID N°: 62); IGLHDPTQGTEPAGE-NH₂ (SEC ID N°: 68); IGLHDPTQGTEPAGC (SEC ID N°: 69); Ac-IGLHDPTQGTEPAGC (SEC ID N°: 70); IGLHDPTQGTEPAGC-NH₂ (SEC ID N°: 71); y Ac-IGLHDPTQGTEPAGC-NH₂ (SEC ID N°: 72). En una realización particular, el péptido o análogo del mismo consiste en: IGLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 50); IGLHDPTQGTEP(Aib)GE (SEC ID N°: 51); Ac-IGLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 52); o (D-Ile)GLHDPTQGTEPAGE (SEC ID N°: 53).

En otro ejemplo, en el presente texto se describen análogos de péptidos HIP adicionales. Por ejemplo, se describe en el presente texto un péptido o análogo del mismo que comprende un péptido o análogo seleccionado entre el grupo que consiste en: Ac-IGLHDPTQGTEPNGE (SEC ID N°: 54); (D-Ile)GLHDPTQGTEPNGE (SEC ID N°: 55); Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-NH₂ (SEC ID N°: 61); IGLHDPTQGTEPNGE-NH₂ (SEC ID N°: 63); IGLHDPTQGTEPNGC (SEC ID N°: 64); Ac-IGLHDPTQGTEPNGC (SEC ID N°: 65); IGLHDPTQGTEPNGC-NH₂ (SEC ID N°: 66); y Ac-IGLHDPTQGTEPNGC-NH₂ (SEC ID N°: 67). En un ejemplo en particular, el péptido o su análogo puede consistir en: Ac-IGLHDPTQGTEPNGE (SEC ID N°: 54); (D-Ile)GLHDPTQGTEPNGE (SEC ID N°: 55); Ac-IGLHDPTQGTEPNGE-NH₂ (SEC ID N°: 61); IGLHDPTQGTEPNGE-NH₂ (SEC ID N°: 63); IGLHDPTQGTEPNGC (SEC ID N°: 64); Ac-

IGLHDPTQGTEPNCG (SEC ID N°: 65); IGLHDPTQGTEPNCG-NH2 (SEC ID N°: 66); o Ac-IGLHDPTQGTEPNCG-NH2 (SEC ID N°: 67).

En otro ejemplo, un péptido o un análogo del mismo puede comprender una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: IGLHDPTQGTEPNGS (SEC ID N°: 56); IGLHDPTQGTEPAGS (SEC ID N°: 57); IGLHDPTQGTLPNGE (SEC ID N°: 58); e IGLHDPTQGTLPAGE (SEC ID N°: 59). Por ejemplo, el péptido o su análogo puede comprender un péptido o análogo seleccionado entre: IGLHDPTQGTEPNGS (SEC ID N°: 56); IGLHDPTQGTEPAGS (SEC ID N°: 57); IGLHDPTQGTLPNGE (SEC ID N°: 58); e IGLHDPTQGTLPAGE (SEC ID N°: 59). En una realización en particular, el péptido o su análogo puede consistir en: IGLHDPTQGTEPNGS (SEC ID N°: 56); IGLHDPTQGTEPAGS (SEC ID N°: 57); IGLHDPTQGTLPNGE (SEC ID N°: 58); o IGLHDPTQGTLPAGE (SEC ID N°: 59).

En una realización particular, la invención proporciona un péptido o un análogo del mismo que comprende Ac-IGLHDPSHGTLPAGS (SEC ID N°: 12). En otra realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo del mismo que consiste en Ac-IGLHDPSHGTLPAGS (SEC ID N°: 12). En un ejemplo, se describe un péptido o un análogo del mismo que comprende Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH2 (SEC ID N°: 31). En otro ejemplo más, se describe un péptido o un análogo del mismo que consiste en Ac-IGLHDPSHGTLPNGS-NH2 (SEC ID N°: 31). En comparación con el péptido parental INGAP-PP, el Péptido de la SEC ID N°: 12 y el Péptido de Referencia SEC ID N°: 31 tienen una estabilidad significativamente mejorada en el plasma y en el medio de cultivo, propiedades farmacocinéticas significativamente mejoradas, un efecto significativamente más fuerte en la secreción de insulina estimulada por glucosa, significativamente más inducción efectiva de las células de los islotes, y un efecto de neogénesis de los islotes significativamente más fuerte. Como se describe en el presente documento, el péptido SEC ID N°: 12 y el Péptido de Referencia SEC ID N°: 31 mostraron una eficacia más alta en relación con el péptido parental INGAP-PP (véase el Ejemplo VIII). Se logró un desplazamiento hacia el tamaño pequeño de los islotes con el péptido de la SEC ID N°: 12 y el Péptido de Referencia SEC ID N°: 31 a 1/100 de la dosis del péptido parental INGAP-PP (véase el Ejemplo IX). El péptido SEC ID N°: 12 y el Péptido de Referencia SEC ID N°: 31 exhibieron adicionalmente propiedades farmacocinéticas mejoradas como se evidencia por un aumento significativo en la AUC y la Cmax, y por una concentración en plasma y páncreas aumentada en relación con el péptido parental INGAP-PP (véase el Ejemplo X). El péptido SEC ID N°: 12 y el Péptido de Referencia SEC ID N°: 31 también mostraron un aumento de la estabilidad en medio de cultivo y en plasma de rata, ratón y humano (véase el Ejemplo XI). Por tanto, el Péptido de SEC ID N°: 12 y el Péptido de Referencia SEC ID N°: 31 tienen ventajas significativas sobre el Péptido INGAP-PP parental. El péptido o análogo de esta invención es útil para diversas aplicaciones que incluyen, pero sin limitarse a ellas, la estimulación del crecimiento de las células de los islotes pancreáticos, produciendo una población de células insulares pancreáticas *ex vivo* o *in vivo*, aumentando el número de células insulares pancreáticos en un ser humano, y tratando enfermedades o condiciones con alteración de la función pancreática, tal como la diabetes mellitus. Más específicamente, las enfermedades o afecciones con función pancreática alterada incluyen, entre otras, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA), glucosa alterada en ayunas, tolerancia alterada a la glucosa, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, deterioro de los niveles de insulina en ayunas y pancreatectomía parcial debida a una lesión o inflamación. El péptido o análogo de esta invención puede administrarse a un paciente a un nivel de dosificación mucho más bajo que el péptido INGAP-PP parental, dando como resultado una eficacia mejorada y/o unos efectos secundarios reducidos en el curso del tratamiento. En realizaciones preferidas, el péptido o análogo de esta invención se administra a un paciente no más de 10 mg/kg cada vez, no más de 5 mg/kg, no más de 1 mg/kg, no más de 0,5 mg/kg, o no más de 0,1 mg/kg. En otras realizaciones preferidas, el péptido o análogo de esta invención se administra a un paciente en un intervalo de dosis de 0,1 a 100 mg por día, 1 - 50 mg por día, 5 - 100 mg por día, 5 - 50 mg por día, 0,1 - 10 mg por día, o 0,1 - 1 mg por día.

En otro ejemplo, se describe en el presente texto un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: $X^1GLHX^2PX^3X^4GTGX^5PX^6GS$, en donde X^1 se selecciona entre Isoleucina (I), D-Isoleucina, L-NorValina o L-NorLeucina; X^2 se selecciona entre Alanina (A) o Ácido Aspártico (D); X^3 se selecciona entre Serina (S) o Treonina (T); X^4 se selecciona entre Histidina (H) o Glutamina (Q); X^5 se selecciona entre Leucina (L) o Ácido Glutámico (E); y cuando X^1 es Isoleucina (I), X^2 es Ácido Aspártico (D), X^3 es Serina (S), X^4 es Histidina (H) y X^5 es Leucina (L), X^6 se selecciona entre Alanina (A), Ácido α -aminoisobutírico o N-metil-L-alanina; de otra forma, X^6 se selecciona entre alanina (A), asparagina (N), ácido α -aminoisobutírico o N-metil-L-alanina. En un ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHAPSHGTLPNGS-OH (SEQ ID N°: 6), H-IGLHDPSHGTLP(Aib)GS-OH (SEQ ID N°: 10), H-(D-Isoleucina)GLHDPSHGTLPNGS-OH (SEC ID N°: 17), H-IGLHDPSHGTEPNGS-OH (SEC ID N°: 18), H-IGLHDPSQGTLPNGS-OH (SEC ID N°: 19), y H-IGLHDPTHGTLPNGS-OH (SEC ID N°: 20). En una realización, el péptido o el análogo de la fórmula es H-IGLHDPSHGTLP (N-metil-L-alanina)GS-OH (SEC ID N°: 11). En otra realización particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDPSHGTLPAGS-OH (SEQ ID N°: 7), H-(D-Isoleucina)GLHDPSHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 13), H- (L-NorValine) GLHDPSHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 14), y H-(L-NorLeucina) GLHDPSHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 15). En un ejemplo, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHAPSHGTLPAGS-OH (SEQ ID N°: 8), H-IGLHDPSHGTEPAGS OH (SEC ID N°: 24), H-IGLHDPSQGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 25), y H-IGLHDPTHGTLPAGS-OH (SEC ID N°: 26).

En otro ejemplo más, se describe en el presente texto un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: $R^1-IGLHDPSHGTLPNGX^1(C)_m-R^2$, en donde, m es 0 o 1; R^1 se selecciona entre -H o -Ac; R^2 se selecciona entre -OH o -NH₂; y cuando R^1 es -H, R^2 es -OH, y m es 0, X^1 se selecciona entre ácido glutámico (E), cisteína (C) o lisina (K); de

otra forma, X^1 se selecciona entre Serina (S), ácido glutámico (E), Cisteína (C) o Lisina (K). En un ejemplo el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PNGE-OH (SEC ID N°: 21), y H-IGLHDP SHGTL PN GK-OH (SEC ID N°: 22). En otro ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre Ac-IGLHDP SHGTL PN GS-NH₂ (SEQ ID N°: 31), H-IGLHDP SHGTL PN GS-NH₂ (SEQ ID N°: 32) y Ac-IGLHDP SHGTL PN GS-OH (SEQ ID N°: 16). En otro ejemplo particular más, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PN GC-OH (SEC ID N°: 37), Ac-IGLHDP SHGTL PN GC-OH (SEC ID N°: 38), H-IGLHDP SHGTL PN GC-NH₂ (SEC ID N°: 39), y Ac-IGLHDP SHGTL PN GC-NH₂ (SEC ID N°: 40). En otro ejemplo particular más, el péptido o análogo de la fórmula se puede seleccionar entre H-IGLHDP SHGTL PN GSC-OH (SEC ID N°: 33), Ac-IGLHDP SHGTL PN GSC-OH (SEC ID N°: 34), H-IGLHDP SHGTL PN GSC-NH₂ (SEQ ID N°: 35), y Ac-IGLHDP SHGTL PN GSC-NH₂ (SEQ ID N°: 36). En otro ejemplo particular más, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PN G-OH (SEQ ID N°: 74), Ac-IGLHDP SHGTL PN G-OH (SEQ ID N°: 75), H-IGLHDP SHGTL PN G-NH₂ (SEQ ID N°: 76), y Ac-IGLHDP SHGTL PN G-NH₂ (SEC ID N°: 77).

En otro ejemplo más, en el presente texto se describe un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: R^1 -IGLHDP SHGTL PAG (X^1)_m-R², en donde, m es 0 o 1; R^1 se selecciona entre -H o -Ac; R^2 se selecciona entre -OH o -NH₂; cuando R^1 es -H, R^2 es -OH, y m es 1, X^1 se selecciona entre ácido glutámico (E), Cisteína (C) o Lisina (K); de otra forma, X^1 se selecciona entre Serina (S), ácido glutámico (E), Cisteína (C) o Lisina (K). En un ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PAG E-OH (SEC ID N°: 27), y H-IGLHDP SHGTL PAG K-OH (SEQ ID N°: 23). En una realización particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre Ac-IGLHDP SHGTL PAG S-NH₂ (SEQ ID N°: 29), H-IGLHDP SHGTL PAG S-NH₂ (SEQ ID N°: 41) y Ac-IGLHDP SHGTL PAG S-OH (SEQ ID N°: 12). En otra realización particular más, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PAG C-OH (SEC ID N°: 46), Ac-IGLHDP SHGTL PAG C-OH (SEC ID N°: 47), H-IGLHDP SHGTL PAG C-NH₂ (SEC ID N°: 48), y Ac-IGLHDP SHGTL PAG C-NH₂ (SEQ ID N°: 49). En otra realización particular más, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PAG-OH (SEC ID N°: 73), H-IGLHDP SHGTL PAG-NH₂ (SEC ID N°: 28) y Ac-IGLHDP SHGTL PAG-NH₂ (SEC ID N°: 30).

En otro ejemplo, en el presente texto se describe un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: R^1 -IGLHDP SHGTL PAG SX²-R², en donde X^2 se selecciona entre Lisina (K) o Cisteína (C), R^1 se selecciona entre -H o -Ac, R^2 se selecciona entre -OH o -NH₂. En una realización particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDP SHGTL PAG SK-OH (SEQ ID N°: 9), H-IGLHDP SHGTL PAG SC-OH (SEQ ID N°: 42), Ac-IGLHDP SHGTL PAG SC-OH (SEQ ID N°: 43), H-IGLHDP SHGTL PAG SC-NH₂ (SEC ID N°: 44), y Ac-IGLHDP SHGTL PAG SC-NH₂ (SEC ID N°: 45).

En otro ejemplo, en el presente texto se describe un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: X^1 GLHDPTQGTX²PX³GE, X^1 se selecciona entre Isoleucina (I) o D-Isoleucina; X^2 se selecciona entre ácido glutámico (E) o Leucina (L); y cuando X^1 es Isoleucina (I) y X^2 es ácido Glutámico (E), X^3 se selecciona entre alanina (A) o ácido α-amino-isobutírico; de otra forma, X^3 se selecciona entre Alanina (A), Asparagina (N) o ácido α-amino-isobutírico. En una realización particular, el péptido o análogo de la fórmula es H-IGLHDPTQGT E P(Aib)GE-OH (SEC ID N°: 51). En otra realización particular, el péptido o análogo de la fórmula se puede seleccionar entre H-IGLHDPTQGT E PAGE-OH (SEC ID N°: 50), y H-(D-isoleucina) GLHDPTQGT E PAGE-OH (SEC ID N°: 53). En un ejemplo, un péptido o análogo de la fórmula se puede seleccionar entre H-(D-isoleucina) GLHDPTQGT E PN GE-OH (SEC ID N°: 55), H-IGLHDPTQGT L PN GE-OH (SEC ID N°: 58), y H-IGLHDPTQGT L PAGE-OH (SEC ID N°: 59).

En otro ejemplo se describe un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: R^1 -IGLHDPTQGT E PN GX¹-R², en donde, R^1 se selecciona entre -H o -Ac; R^2 se selecciona entre -OH o -NH₂; cuando R^1 es -H y R^2 es -OH, X^1 se selecciona entre Serina (S) o Cisteína (C); de otra forma, X^1 se selecciona entre Serina (S), ácido Glutámico (E) o Cisteína (C). En un ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre Ac-IGLHDPTQGT E PN GE-OH (SEC ID N°: 54), Ac-IGLHDPTQGT E PN GE-NH₂ (SEC ID N°: 61) y H-IGLHDPTQGT E PN GE-NH₂ (SEC ID N°: 63). En otro ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede ser seleccionado entre H-IGLHDPTQGT E PN GS-OH (SEQ ID N°: 56), H-IGLHDPTQGT E PN GC-OH (SEC ID N°: 64), Ac-IGLHDPTQGT E PN GC-OH (SEQ ID N°: 65), H-IGLHDPTQGT E PN GC-NH₂ (SEQ ID N°: 66) y Ac-IGLHDPTQGT E PN GC-NH₂ (SEQ ID N°: 67).

En otro ejemplo, en el presente texto se describe un péptido o análogo que tiene la siguiente fórmula: R^1 -IGLHDPTQGT E PAG (X^1)_n-R², en donde R^1 se selecciona entre -H o -Ac; R^2 se selecciona entre -OH o -NH₂; n es 0, o 1; X^1 se selecciona entre Serina (S) o Cisteína (C). En un ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre H-IGLHDPTQGT E PAG S-OH (SEC ID N°: 57), Ac-IGLHDPTQGT E PAG S (SEC ID N°: 60), H-IGLHDPTQGT E PAG C-OH (SEC ID N°: 69), Ac-IGLHDPTQGT E PAG C-OH (SEQ ID N°: 70), H-IGLHDPTQGT E PAG C-NH₂ (SEQ ID N°: 71), y Ac-IGLHDPTQGT E PAG C-NH₂ (SEQ ID N°: 72). En otro ejemplo particular, el péptido o análogo de la fórmula puede seleccionarse entre Ac-IGLHDPTQGT E PAGE-NH₂ (SEC ID N°: 62) y H-IGLHDPTQGT E PAGE-NH₂ (SEC ID N°: 68). En una realización, el péptido o análogo de la fórmula es Ac-IGLHDPTQGT E PAGE-OH (SEC ID N°: 52) y H-IGLHDPTQGT E PAGE-NH₂ (SEC ID N°: 68).

Como se describe en el presente documento, los péptidos o análogos de la invención incluyen análogos de INGAP-PP y HIP que pueden ser péptidos que tienen los 20 aminoácidos estándar de origen natural, así como otros aminoácidos de origen natural y/o no natural. Los péptidos como se describen en el presente documento usan

generalmente nomenclatura convencional. Por ejemplo, algunos péptidos se designan H-XXX-OH, y los expertos en la técnica entenderán que estos pueden designar los extremos amino- (H-) o carboxi (-OH) no modificados. La secuencia de aminoácidos también puede representarse sin indicar una modificación en el extremo amino o carboxi. Los expertos en la técnica entenderán que los péptidos descritos en el presente documento, a menos que se indique una modificación específica en el extremo N- o C-, pueden incluir los extremos amino y/o carboxi sin modificar y modificados en un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos o un análogo de péptido específicos. Por tanto, un péptido o análogo que comprende una secuencia de aminoácidos designada puede incluir aminoácidos adicionales en el extremo N y/o C, así como aminoácidos modificados de la secuencia designada. Un péptido o análogo que comprende un péptido o análogo designado puede incluir aminoácidos modificados y/o aminoácidos adicionales, a menos que el extremo N y/o C comprenda una modificación que excluya la adición de un aminoácido, por ejemplo, a través de un enlace peptídico. Tales modificaciones pueden incluir, por ejemplo, un extremo N acetilado y/o un extremo C amidado.

Como se describe en el presente documento, los péptidos o análogos de la invención pueden comprender una modificación. Los expertos en la técnica entenderán que se pueden realizar varias modificaciones en un péptido o análogo. Las modificaciones ejemplares incluyen, pero no se limitan a ellas, un extremo N acetilado, un extremo C amidado, un aminoácido D, un aminoácido modificado, una modificación de ácidos grasos, esterificación, o una combinación de los mismos. Cualquiera de una serie de modificaciones bien conocidas de un péptido o aminoácido puede incluirse en un péptido o análogo de la invención. Por ejemplo, los derivados pueden incluir modificaciones químicas del polipéptido tales como esterificación, alquilación, acilación, carbamilación, yodación, o cualquier modificación que derivative el polipéptido. Las modificaciones de un péptido o análogo pueden incluir aminoácidos modificados, por ejemplo hidroxiprolina o carboxiglutamato, y pueden incluir aminoácidos que no están unidos por enlaces peptídicos.

Los expertos en la técnica entienden que se puede emplear cualquiera entre varios métodos bien conocidos para producir péptidos o análogos de la invención (véase, por ejemplo, *Protein Engineering: A Practical Approach* (IRL Press 1992); Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis* (Springer-Verlag 1984), Lloyd-Williams et al., *Tetrahedron* 49: 11065 - 11133 (1993); Kent, *Ann. Rev. Biochem.* 57: 957 - 989 (1988); Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, 85: 2149 - 2154 (1963); Merrifield, *Methods Enzymol.* 289: 3 - 13 (1997)). Un método particularmente útil para producir péptidos o análogos de la invención es a través de la síntesis química usando métodos bien conocidos de síntesis de péptidos. La síntesis química es particularmente útil para introducir aminoácidos no naturales, aminoácidos modificados y/o un extremo N y/o C modificado. Por ejemplo, una ventaja de usar síntesis química para preparar un péptido o análogo de la invención es que los (D)-aminoácidos pueden ser sustituidos por (L)-aminoácidos, si se desea. La incorporación de uno o más (D)-aminoácidos puede conferir, por ejemplo, estabilidad adicional del péptido *in vitro* o, particularmente, *in vivo*, ya que generalmente las endoproteasas endógenas son ineficaces contra los péptidos que contienen (D)-aminoácidos. Los péptidos que tienen D aminoácidos también se pueden designar en el presente documento utilizando la nomenclatura bien conocida de una letra pequeña para el correspondiente código de una sola letra para un aminoácido.

Si se desea, el grupo lateral reactivo de uno o más aminoácidos en un péptido o análogo de la invención puede modificarse o los derivados de aminoácidos pueden ser incorporados en el péptido. La modificación selectiva de un grupo reactivo de un péptido o análogo puede conferir características deseables sobre un péptido o análogo. La elección de incluir tal modificación está determinada, en parte, por las características requeridas del péptido. Por ejemplo, un péptido o análogo puede tener un extremo carboxilo libre o puede modificarse de modo que el extremo C esté amidado (véanse las Tablas 2 y 3). Del mismo modo, un péptido o análogo puede tener un extremo amino libre o puede modificarse de modo que el extremo N esté acetilado (Tablas 2 y 3). Además, los péptidos o análogos de la invención se pueden amidar opcionalmente en el extremo C y acetilarse en el extremo N. Otras modificaciones del extremo N y/o C de un péptido o análogo pueden también incluirse dentro del significado de una modificación.

Otras modificaciones de un péptido o análogo de la invención pueden incluir, pero no se limitan a ellas, ácido 2-aminoadípico (Aad); ácido 3-aminoadípico (bAad); beta-alanina, ácido beta-aminopropiónico (bAla); ácido 2-aminobutírico (Abu); ácido 4-aminobutírico; ácido piperidínico (4Abu); ácido 6-aminocaproico (Acp); ácido 2-aminoheptanoico (Ahe); ácido 2-aminoisobutírico (Aib); ácido 3-aminoisobutírico (bAib); ácido 2-aminopimélico (Apm); ácido 2,4-diaminobutírico (Dbu); desmosina (Des); ácido 2,2'-diaminopimélico (Dpm); ácido 2,3-diaminopropiónico (Dpr); N-etilglicina (EtGly); N-etilasparagina (EtAsn); Hidroxilisina (Hyl); alohidroxilisina (aHyl); 3-hidroxiprolina (3Hyp); 4-hidroxiprolina (4Hyp); isodesmosina (Ide); alo-isoleucina (alle); N-metilglicina (MeGly); sarcosina; N-metilisoleucina (Melle); 6-N-metililisina (MeLys); N-metilvalina (MeVal); Norvalina (Nva); Norleucina (Nle); y ornitina (orn). Se entiende que todos los alfa-aminoácidos modificados pueden sustituirse con los correspondientes beta-, gamma- u omega-aminoácidos.

Otra modificación de un péptido o análogo de la invención incluye la modificación de ácidos grasos. Así pues, un péptido o análogo de la invención se puede modificar por acilación con grupos alifáticos, incluyendo C2, C4, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18, C20 o cadenas más largas. El péptido o el análogo también pueden modificarse por isoprenilación y/o fosfatidilinositol (PI). Las modificaciones adicionales de un péptido o análogo de la invención incluyen la esterificación. Por ejemplo, un grupo carboxilo puede modificarse por esterificación catalizada por ácido o condensación con un alcohol. A la inversa, un grupo alcohol puede modificarse por condensación con un ácido

carboxílico u otro ácido. Las modificaciones adicionales de un péptido o análogo de la invención pueden incluir la ciclación. Por ejemplo, por la introducción de la restricción conformacional a través de la ciclación de cabeza a cola mejora la estabilidad del péptido que sus contrapartes lineales, por lo tanto prolonga la duración de la acción del péptido. Restringiendo la flexibilidad conformacional, se cree que el péptido cíclico adopta una conformación que se asemeja más a la de la secuencia activa tal como se presenta en la proteína nativa (véase, por ejemplo, Dutta *Chem. Br.* 25: 159 (1989); Kopple, *J. Am. Chem. Soc.* 94 – 973 - 981 (1972); Brugghe et al. *Int. J. Peptide Protein Res.* 43: 166 – 170 (1994)). Estas y otras modificaciones de aminoácidos, péptidos o proteínas son bien conocidas por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Glazer et al., *Chemical modification of proteins: Selected methods and analytical procedures*, Elsevier Biomedical Press, Ámsterdam (1975)). Se entiende que tales modificaciones pueden incluirse en un péptido o análogo de la invención como modificaciones individuales o combinaciones de una o más modificaciones en un péptido o una molécula análoga.

La invención también incluye miméticos o imitaciones de los péptidos o análogos proporcionados en el presente documento, también denominados peptidomiméticos. Los miméticos abarcan productos químicos que contienen restos químicos que imitan la función del péptido. Por ejemplo, si un péptido contiene dos restos químicos cargados que tienen actividad funcional, un mimético coloca dos restos químicos cargados en una orientación espacial y una estructura forzadas para que la función química cargada se mantenga en un espacio tridimensional. Así pues, un mimético orienta los grupos funcionales de un péptido o análogo de la invención de manera que se retenga la actividad funcional de un péptido o análogo.

Los miméticos o peptidomiméticos pueden incluir péptidos modificados químicamente, moléculas similares a péptidos que contienen aminoácidos de origen no natural, peptoides y similares, y tienen la actividad funcional del péptido o análogo sobre el cual se deriva el peptidomimético (véase, por ejemplo, *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 5ª ed., Vols. 1 a 3 (ed. M. E. Wolff; Wiley Interscience 1995)). Los métodos para identificar un peptidomimético son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, el cribado de bases de datos que contienen bibliotecas de peptidomiméticos potenciales (Allen et al., *Acta Crystallogr.* Sección B, 35: 2331 (1979)) o utilizando modelos moleculares (Rusinko y otros, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 29: 251 (1989)). Los miméticos o peptidomiméticos pueden proporcionar propiedades deseables tales como una mayor estabilidad, por ejemplo cuando se administra a un sujeto, tal como durante el paso a través del tracto digestivo y, por tanto, puede ser útil para la administración oral.

Se en la técnica conoce una variedad de miméticos o peptidomiméticos que incluyen, pero sin limitarse a ellos, moléculas similares a péptidos que contienen un aminoácido forzado, un componente no peptídico que imita la estructura secundaria del péptido, o un isómero de enlace amida. Un mimético o peptidomimético que contiene un aminoácido no natural forzado puede incluir, sin limitación, un aminoácido α -metilado; α -, α -dialquilglicina o ácido α -aminocicloalcano carboxílico; un aminoácido ciclizado en $N\alpha$ - $C\alpha$; un aminoácido $N\alpha$ -metilado; un ácido β - o γ -amino cicloalcano carboxílico; un aminoácido α,β -insaturado; un aminoácido β,β -dimetilo o β -metilo; un 2,3-metano-aminoácido sustituido; un aminoácido ciclizado N-C δ o $C\alpha$ -C δ ; una prolina sustituida u otro aminoácido mimético. Un mimético o peptidomimético que imita la estructura secundaria del péptido puede contener, sin limitación, un imitador de β -turn no peptídico; imitador γ -turn; o imitador de estructura helicoidal, cada uno de los cuales es bien conocido en la técnica. Como ejemplos no limitantes, un peptidomimético puede ser también una molécula similar a un péptido que contiene un isómero de enlace amida, tal como una modificación retroinversa; enlace amida reducido; enlace metileno-tioéter o metileno-sulfóxido; enlace metileno-éter; enlace etileno; enlace tioamida; enlace trans-olefina o fluoroolefina; anillo de tetrazol 1,5-disustituido; enlace de cetometileno o fluorocetometileno u otro isómero de amida. Un experto en la técnica entiende que se pueden usar estos y otros miméticos o peptidomiméticos de un péptido o un análogo de la invención.

La invención proporciona también derivados pseudopeptídicos de péptidos o análogos de la invención. Los pseudopéptidos son conocidos en la técnica como péptidos en los que un enlace peptídico (enlace amida) en un péptido se modifica en un sustituto de enlace amida (véase, por ejemplo, Cudic y Stawikowski, *Mini-Rev Organic Chem.* 4: 268 - 280 (2007) Anderson, en *Neuropeptide Protocols*, Brent y Carvell, eds. 73: 49 - 60 (1996)). Los sustitutos ejemplares del enlace amida incluyen, pero no se limitan a ellos, peptidosulfonamidas, fosfonopéptidos, dépsidos y depsiépéptidos, oligogreas, azapéptidos y peptoides (véase Cudic y Stawikowski, *supra*, 2007), así como derivados de metilnamino, tioéter e hidroxietileno, y similares. Anderson, *supra*, 1996).

Los péptidos o análogos de la invención pueden producirse usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo la síntesis química de los péptidos o los análogos usando métodos de síntesis de péptidos bien conocidos, como se describe en el presente documento. Por tanto, cuando los péptidos o análogos incluyen uno o más aminoácidos no estándar, es más probable que se produzcan por un método de síntesis química. Además de usar la síntesis química de péptidos o análogos, los péptidos o análogos pueden producirse por expresión a partir de ácidos nucleicos codificadores. Esto es particularmente útil para péptidos o análogos que incluyen solo aminoácidos naturales. En tal caso, un ácido nucleico que codifica la secuencia peptídica puede prepararse utilizando métodos bien conocidos (véase Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Tercera edición, Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York (2001); Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, Md. (1999)). Generalmente, tal ácido nucleico se expresará de forma recombinante en un organismo hospedador adecuado, tal como una célula bacteriana, de levadura, de mamíferos o insectos, y similares. La producción en bacterias puede ser particularmente útil para la producción a gran escala de un péptido o análogo de la invención. El

péptido puede expresarse en el organismo y purificarse utilizando técnicas de purificación bien conocidas. La producción en bacterias puede ser particularmente útil para la producción a gran escala de un péptido o análogo de la invención. El péptido puede expresarse en el organismo y purificarse utilizando técnicas de purificación bien conocidas.

Una molécula de ácido nucleico que codifica el péptido o análogo de la invención se puede clonar en un vector apropiado, en particular en un vector de expresión, y el péptido o análogo codificado se puede expresar en una célula hospedadora o usando una reacción de transcripción/traducción *in vitro*, proporcionando así un medio para obtener grandes cantidades del péptido o análogo. Opcionalmente, el péptido recombinante se puede producir como fusión con una etiqueta, tal como una etiqueta His, para facilitar la identificación y la purificación. Los vectores adecuados, las células hospedadoras, los sistemas de transcripción/traducción *in vitro* y las secuencias de etiquetas son bien conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente.

El péptido o análogo puede expresarse como una sola copia, en un vector de expresión policistrónico, o bien puede expresarse opcionalmente como un único marco de lectura abierto con múltiples copias de la secuencia peptídica. En tal caso, el péptido puede obtenerse expresando un marco de lectura abierto que contiene múltiples copias de la secuencia del péptido, dando como resultado la expresión de un polipéptido con múltiples copias del péptido. El polipéptido puede procesarse después de la traducción en un péptido o análogo de la invención, por ejemplo, construyendo los sitios de escisión proteolítica apropiados entre las copias del péptido y escindiendo el polipéptido en el péptido o análogo de la invención. Aunque tal método recombinante se usará generalmente cuando el péptido o análogo de la invención sea un péptido que contiene solamente aminoácidos de origen natural, también se entiende que un método de este tipo puede emplearse con hospedadores de expresión adecuadamente construidos para expresar aminoácidos no naturales. Adicionalmente, se entiende que un péptido o análogo expresado de forma recombinante puede opcionalmente ser modificado químicamente para introducir una modificación deseada de aminoácidos o una modificación N- y/o C-terminal usando métodos de modificación química bien conocidos (véase Glazer et al., *supra*, 1975).

Así pues, en el presente texto se describen también ácidos nucleicos que codifican péptidos o análogos descritos en el presente texto. Tales ácidos nucleicos incluyen, por ejemplo, ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las secuencias de aminoácidos de SEQ ID N°s: 6-73. Por lo tanto, cuando los análogos incluyen solo una o más sustituciones con aminoácidos estándar, los análogos pueden expresarse a partir de un vector de expresión usando métodos bien conocidos, como se describe en el presente documento.

Los péptidos o análogos de la invención pueden comprender una secuencia o péptido o análogo como se proporciona en este documento. En el caso de un péptido o análogo que comprende una secuencia de aminoácidos o péptido, el péptido generalmente tendrá una longitud de 20 aminoácidos o menos. Por ejemplo, el péptido o análogo puede tener una longitud de 19 aminoácidos o menos, 18 aminoácidos o menos, 17 aminoácidos o menos. Por tanto, un péptido o análogo de la invención, como se describe en este documento, puede tener una longitud de 10 aminoácidos, 11 aminoácidos, 12 aminoácidos, 13 aminoácidos, 14 aminoácidos (véase Péptido 73, Péptido de Referencia 74), 15 aminoácidos, 16 aminoácidos, 17 aminoácidos, 18 aminoácidos, 19 aminoácidos o 20 aminoácidos. En el caso de péptidos más cortos, los expertos en la técnica entienden que el péptido más corto incluye un fragmento de un péptido o análogo descrito, por ejemplo, mediante la eliminación de uno o más aminoácidos en el extremo N y/o C de un péptido o análogo descrito, que conserva la actividad funcional, que incluye, pero no se limita a ellas, una o más de las actividades biológicas de los péptidos y análogos de la invención, como se describe en el presente documento. No obstante, se entiende que un péptido también puede comprender longitudes de aminoácidos más largas, siempre que se conserve la actividad funcional del péptido o análogo. Por lo tanto, un péptido o análogo puede tener una longitud de menos de 150 restos, menos de 130 restos, menos de 120 restos, menos de 110 restos, menos de 100 restos, menos de 90 restos, menos de 80 restos, menos de 70 restos, menos de 60 restos, menos de 50 restos, menos de 45 restos, menos de 40 restos, menos de 35 restos, menos de 30 restos, menos de 25 restos, menos de 24 restos, menos de 23 restos, menos de 22 restos, menos de 21 restos, menos de 20 restos, menos de 19 restos, menos de 18 restos o menos de 17 restos. Los expertos en la materia entenderán que, cuando un péptido o análogo de la invención comprende una secuencia encontrada dentro de una secuencia más larga conocida, tal como una proteína de longitud completa de tipo silvestre, el péptido o análogo de la invención excluye específicamente dicha secuencia de longitud completa.

La invención también proporciona péptidos y análogos de la invención en forma de sal farmacéuticamente aceptable que es bien conocida por los expertos en la técnica. Una forma de sal particularmente útil es la forma de sal acetato o clorhidrato. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que está disponible cualquiera de una serie de formas de sal adecuadas. Cuando el péptido o análogo de la invención contiene un resto ácido o básico, se puede proporcionar como una sal farmacéuticamente aceptable (véase, por ejemplo, Berge et al., *J. Pharm. Sci.* 1977, 66, 1 - 19; y *Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties and Use*; Stahl y Wermuth, Ed.; Wiley-VCH y VHCA: Zürich, Suiza, 2002).

Los ácidos adecuados para su uso en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a ellos, ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido alginico, ácido ascórbico, ácido L-aspartico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido bórico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido (+)-(1S)-canfor-10-sulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico,

ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido ciclohexanosulfámico, ácido desoxicólico, ácido dodecilsulfúrico, ácido docosaheptaenoico, ácido eicosapentaenoico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido L-glutámico, ácido α -oxoglutarico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido yodhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido ($\pm$)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido láurico, ácido maleico, ácido (-)-L- málico, ácido malónico, ácido ($\pm$)-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido perclórico, ácido fosfórico, ácido L-pirolglutámico, ácido sacárico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiociánico, ácido p-toluenosulfónico, ácido undecilénico, ácido ursólico y ácido valérico.

Bases adecuadas para su uso en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables, que incluyen, entre otras, bases inorgánicas tales como hidróxido de magnesio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, hidróxido de zinc o hidróxido de sodio; y bases orgánicas, tales como aminas primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias, alifáticas y aromáticas, que incluyen L-arginina, benetamina, benzatina, colina, deanol, dietanolamina, dietilamina, dimetilamina, dipropilamina, diisopropilamina, 2-(dietilamina)-etanol, etanolamina, etilamina, etilendiamina, isopropilamina, N-metilglucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, L-lisina, morfina, 4-(2-hidroxietil)-morfina, metilamina, piperidina, piperazina, propilamina, pirirolidina, 1-2-(hidroxietil)-pirrolidina, piridina, quinclidina, quinoleína, isoquinoleína, aminas secundarias, trietanolamina, trimetilamina, trietilamina, N-metil-D-glucamina, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol y trometamina.

La invención también proporciona péptidos y análogos de la invención en una composición. Por ejemplo, los péptidos o análogos de las Tablas 2 o 3, u otros péptidos o análogos descritos en este documento o las fórmulas descritas en este documento, pueden proporcionarse en una composición, como se describe en este documento. En una realización particular, la composición puede comprender el péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. La composición puede formularse opcionalmente con un vehículo farmacéuticamente aceptable para producir una composición farmacéutica, que puede administrarse al individuo que puede ser un ser humano u otro mamífero. Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser, por ejemplo, agua, tampón fosfato de sodio, solución salina tamponada con fosfato, solución salina normal o solución de Ringer u otra solución salina tamponada fisiológicamente, u otro disolvente o vehículo como un glicol, glicerol, un aceite tal como aceite de oliva o un éster orgánico inyectable.

Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede contener compuestos fisiológicamente aceptables que actúan, por ejemplo, estabilizando o aumentando la absorción del péptido o el análogo de la invención. Tales compuestos fisiológicamente aceptables incluyen, por ejemplo, hidratos de carbono tales como glucosa, sacarosa o dextranos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o glutatión; agentes quelantes como el ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), que rompe las membranas microbianas; iones metálicos divalentes tales como calcio o magnesio; proteínas de bajo peso molecular; u otros estabilizantes o excipientes. Un experto en la técnica sabría que la elección de un vehículo farmacéuticamente aceptable, que incluye un compuesto fisiológicamente aceptable, depende por ejemplo de la vía de administración de la composición. Los portadores adecuados y sus formulaciones son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19 ed., Ed. A. R. Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, PA (1995); y *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton PA. (1990)). Típicamente, se usa en la formulación una cantidad apropiada de una sal farmacéuticamente aceptable para hacer que la formulación sea isotónica. El pH de la solución es generalmente de aproximadamente 4 a aproximadamente 8,5, por ejemplo de aproximadamente 4 a aproximadamente 5, de aproximadamente 5 a aproximadamente 6, de aproximadamente 6 a aproximadamente 7, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 8, de aproximadamente 5 a aproximadamente 8, de aproximadamente 5 a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 5,5, a aproximadamente 8, de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8, de aproximadamente 7 a aproximadamente 8, de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 8, o de aproximadamente 7 a aproximadamente 7,5.

Los portadores farmacéuticos son conocidos por los expertos en la técnica. Por regla general, estos serían portadores estándar para la administración de medicamentos a seres humanos, incluidas soluciones como agua estéril, solución salina y soluciones tamponadas a pH fisiológico, como se describe anteriormente. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir vehículos, espesantes, diluyentes, tampones, conservantes, agentes tensioactivos y similares, además de la molécula de elección, tales como los péptidos o análogos de la invención. Las composiciones farmacéuticas pueden también incluir uno o más ingredientes activos tales como agentes antimicrobianos, agentes antiinflamatorios, anestésicos y similares.

Otros vehículos incluyen preparaciones de liberación sostenida o controlada, tales como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos unidos covalentemente o no covalentemente al péptido o análogo, las cuales matrices están en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas, liposomas, complejos lipídicos no liposómicos o micropartículas, y similares, u otros polímeros biocompatibles bien conocidos por los expertos en la técnica (véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n° 6.824.822 y 8.329.648). Los liposomas, que consisten en fosfolípidos u otros lípidos, son portadores no tóxicos, fisiológicamente aceptables y metabolizables, que son relativamente fáciles de

5 fabricar y administrar (*Gregoriadis, Liposome Technology*, Vol. 1 (CRC Press, Boca Raton Fla., 1984). Varios métodos de suministro de fármaco son bien conocidos por los expertos en la técnica (Langer, *Nature* 392 (Suppl): 5 - 10 (1998); Langer et al., *Nature* 428: 487 - 492 (2004)). Será evidente para los expertos en la técnica que se pueden seleccionar ciertos vehículos dependiendo, por ejemplo, de la vía de administración y la concentración de la composición que está siendo administrada.

10 Como se describe en el presente documento, los péptidos o análogos de la invención se pueden preparar como formulaciones de liberación sostenida o controlada. Como se describe en el Ejemplo XII, pueden generarse varias composiciones de liberación sostenida que demuestran la viabilidad de formas de dosificación de liberación de acción prolongada de los péptidos o análogos de la invención. Las formulaciones ejemplares incluyen polímeros biocompatibles que incluyen, entre otros, polímeros que contienen poli(etilenglicol) (PEG), polioles tensioactivos no iónicos, también conocidos como poloxámeros, que son copolímeros de polioxipropileno y polioxietileno (poli(óxido de etileno)), polieteraminas, que pueden basarse en óxido de etileno (EO), óxido de propileno (PO), una mezcla de EO/PO o politetrametilenglicol (PTMEG), poliéter diaminas basadas en una estructura predominantemente PEG, y similares. Los poloxómeros ejemplares incluyen, pero no se limitan a ellos, Pluronic® F127, Pluronic® F38, Pluronic® F68, Pluronic® F87, Pluronic® F108, Pluronic® 10R5, Pluronic® 17R2, Pluronic® 17R4, Pluronic® 25R2, Pluronic® 25R4, Pluronic® 31R1, Pluronic® F 108 Cast Solid Surfacta, Pluronic® F 108 NF, Pluronic® F 108 Pastille, Pluronic® F 108NF Prill Poloxamer 338, Pluronic® F 127 NF, Pluronic® F 127 NF 500 BHT Prill, Pluronic® F 127 NF Prill Poloxamer 407, Pluronic® F 38 Pastille, Pluronic® F 68 LF Pastille, Pluronic® F 68 NF, Pluronic® F 68 NF Prill Poloxamer 188, Pluronic® F 68 Pastille, Pluronic® F 77, Pluronic® F 77 Micropastille, Pluronic® F 87 NF, Pluronic® F 87 NF Prill Poloxamer 237, Pluronic® F 88, Pluronic® F 88 Pastille, Pluronic® F 98, Pluronic® FT L 61, Pluronic® L 10, Pluronic® L 101, Pluronic® L 121, Pluronic® L 31, Pluronic® L 35, Pluronic® L 43, Pluronic® L 61, Pluronic® L 62, Pluronic® L 62 LF, Pluronic® L 62D, Pluronic® L 64, Pluronic® L 81, Pluronic® L 92, Pluronic® L44 NF INH Poloxamer 124 tensioactivo, Pluronic® N 3, Pluronic® P 103, Pluronic® P 104, Pluronic® P 105, Pluronic® P 123 tensioactivo, Pluronic® P 65, Pluronic® P 84, Pluronic® P 85 y similares. Las polieteraminas ejemplares incluyen, pero sin limitarse a ellas, Jeffamine® ED-2003, Jeffamine® D-2000 Jeffamine® D-230, Jeffamine® D-400, Jeffamine® EDR-176, Jeffamine® SD-2001, Jeffamine® T-403, Jeffamine® T-5000. Los componentes adicionales pueden incluir, por ejemplo, ciclodextrinas tales como ciclodextrinas alfa, beta y gamma. Pueden usarse métodos bien conocidos en la técnica para generar formulaciones de liberación sostenida. Los componentes pueden formularse en las concentraciones y en las proporciones deseadas que incluyen, entre otras, una concentración de 0,1% a 30%, por ejemplo, 0,5% p/p a 20%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, y similares, p/p del peso final de la composición. Otros sistemas de suministro de péptidos de liberación sostenida conocidos en la técnica incluyen, por ejemplo, la formulación de nanopartículas que comprenden poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), polilactida (PLA), PEG/PLGA y liposomas, que también se pueden usar para generar una formulación de liberación sostenida. Las formulaciones de liberación sostenida son bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª ed., Mack Publishing Company, Easton PA (1990)). Las formulaciones de liberación sostenida son útiles para proporcionar una dosificación estable y/o continua de un péptido o análogo de la invención y/o para evitar la administración repetida.

40 La composición farmacéutica se puede administrar de varias maneras dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico, y del área a tratar. Se entiende que una variedad de rutas de administración son útiles para los péptidos, análogos y métodos de la invención. Dichas rutas abarcan la administración sistémica y local e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, inyección intraperitoneal, inyección intramuscular, inyección subcutánea, suministro transdérmico, difusión transdérmica o electroforesis, administración inhalable, administración oral, inyección local, intracavidad y dispositivos de administración de liberación prolongada, incluyendo dispositivos de liberación prolongada implantados localmente, como los implantes bioerosionables o basados en reservorios. La administración puede ser tópica (incluyendo oftalmológica, vaginal, rectal, intranasal), por vía oral, por inhalación, o por vía parenteral, por ejemplo por goteo intravenoso, inyección subcutánea, intraperitoneal o intramuscular. Las formulaciones de liberación sostenida pueden administrarse a través de implantes de formación *in situ*. Además, se entiende que los péptidos o análogos de la invención pueden administrarse diariamente en una única administración, en administraciones diarias múltiples, en formulaciones de liberación sostenida, ya sea con administración continua o intermitente, no continua, intermitentemente en días no consecutivos, y así sucesivamente, para lograr el efecto deseado.

55 Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Ejemplos de disolventes no acuosos son el propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables tales como el oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, que incluyen medios salinos y tamponados. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, lactato de Ringer o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen rellenos de líquidos y nutrientes, rellenos de electrolitos (como los que se basan en la dextrosa de Ringer) y similares. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, agentes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes y similares. La insulina es un péptido terapéutico bien conocido, por lo que los métodos utilizados para el suministro de insulina son particularmente susceptibles como método de administración para péptidos o análogos de la invención, que incluyen, entre otros, jeringas, bolígrafos, bombas de infusión, inhaladores, aerosoles bucales, píldoras y similares.

La guía sobre las dosis apropiadas para los péptidos o análogos de la invención se proporciona en Dungan et al., *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 25: 558 - 565 (2009). En particular, los ensayos clínicos en humanos con péptido INGAP proporcionan una indicación de posibles dosis adecuadas para los péptidos o análogos de la invención. Dado que los péptidos o análogos de la invención presentan una eficacia mejorada sobre el péptido INGAP original (véanse los Ejemplos), los péptidos o análogos de la invención pueden administrarse a dosis efectivas que son más bajas que las usadas para INGAP. Las dosis ejemplares para péptidos o análogos de la invención incluyen, pero no se limitan a ellas, 0,01-1000 mg por día, por ejemplo, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990 o 1000 mg por día. En una realización particular, las dosis de péptidos son aproximadamente 1-100 mg por día, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 mg por día. Los márgenes de dosis ejemplares incluyen, pero no se limitan a ellos, 0,01-1.000, 0,1-1.000, 1-1.000, 10-1.000, 100-1.000, 0,01-500, 0,1-500, 1-500, 10-500, 100-500, 0,01-400, 0,1-400, 1-400, 10-400, 100-400, 0,01-300, 0,1-300, 1-300, 10-300, 100-300, 0,01-200, 0,1-200, 1-200, 10-200, 100-200, 0,01-100, 0,1-100, 1-100, 10-100, 1-90, 1-80, 1-70, 1-60, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10, 5-100, 5-90, 5-80, 5-70, 5-60, 5-50, 5-40, 5-30, 5-20, 5-10, 10-100, 10-90, 10-80, 10-70, 10-60, 10-50, 10-40, 10-30, 10-20, 15-100, 15-90, 15-80, 15-70, 15-60, 15-50, 15-40, 15-30, 15-20, 20-100, 20-90, 20-80, 20-70, 20-60, 20-50, 20-40, 20-30, 25-100, 25-90, 25-80, 25-70, 25-60, 25-50, 25-40, 25-30, 30-100, 30-90, 30-80, 30-70, 30-60, 30-50, 30-40, 35-100, 35-90, 35-80, 35-70, 35-60, 35-50, 35-40, 35-30, 40-100, 40-90, 40-80, 40-70, 40-60, 40-50, 45-100, 45-90, 45-80, 45-70, 45-60, 45-50, 50-100, 50-90, 50-80, 50-70, 50-60, 55-100, 55-90, 55-80, 55-70, 55-60, 60-100, 60-90, 60-80, 60-70, 65-100, 65-90, 65-80, 65-70, 70-100, 70-90, 70-80, 75-100, 75-90, 75-80, 80-100, 80-90, 90-100 y similares, o cualquier incremento de dosis de las dosis expuestas anteriormente. Los expertos en la materia entenderán que las dosis de los péptidos y los análogos de la invención se proporcionan generalmente como una dosis por día para administrar a un sujeto. Los expertos en la materia entienden además que puede ajustarse una dosis aumentando o disminuyendo la dosis dependiendo de la capacidad de respuesta del sujeto, el peso del sujeto, etc., como es bien conocido por un médico o clínico experto en este campo. Los péptidos o análogos de las Tablas 2 o 3, u otros péptidos o análogos descritos en este documento o las fórmulas descritas en este documento, se pueden proporcionar en una composición a las dosis indicadas, como se describe en el presente documento. En una realización particular, la composición puede comprender el péptido o análogo de SEQ ID N°: 12 a las dosis indicadas.

Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención son particularmente útiles para tratar ciertas enfermedades y trastornos. Por ejemplo, los péptidos o análogos de la invención pueden usarse para tratar la función pancreática alterada, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración del hígado o inhibir la inflamación. Así pues, la invención proporciona además composiciones de la invención para tratar la función pancreática alterada, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración del hígado o inhibir la inflamación. En una realización particular, la composición puede comprender el péptido o el análogo de la SEC ID N°: 12. El uso de los péptidos y análogos de la invención en tales aplicaciones terapéuticas se describe a continuación con más detalle.

Si se desea, los péptidos o análogos de la invención pueden administrarse combinados. Por ejemplo, una combinación de dos o más péptidos o análogos de la invención, por ejemplo el péptido o análogo de la SEC ID N°: 12, se puede administrar para un método de tratamiento como se describe en este documento. Dicha combinación puede administrarse al mismo tiempo, ya sea en formulaciones separadas o combinadas en la misma formulación, dependiendo de los péptidos que se están administrando y la compatibilidad de las formulaciones para los péptidos o análogos de la invención. Alternativamente, los dos o más péptidos o análogos de la invención se pueden administrar secuencialmente, incluyendo en el mismo día o escalonados en días separados.

Además, los expertos en la técnica entienden que el péptido y los análogos de la invención pueden administrarse opcionalmente con fármacos o agentes terapéuticos para tratar una afección. Por ejemplo, en el caso de tratar diabetes o afecciones relacionadas, se pueden administrar otros fármacos antidiabéticos con los péptidos o análogos de la invención. Se entiende que tal coadministración puede ocurrir simultáneamente, ya sea en formulaciones separadas o combinadas en la misma formulación, dependiendo de los medicamentos que se administran y la compatibilidad de las formulaciones para los péptidos o análogos de la invención. Alternativamente, la coadministración puede ocurrir de forma secuencial, incluso en el mismo día o escalonada en días separados. Un experto en la materia entenderá los regímenes de administración apropiados adecuados para la administración eficaz de un péptido o análogo de la invención con otro fármaco o agente terapéutico. Se entiende además que la administración del péptido o análogo puede ser intermitente.

En el caso del tratamiento de la insulina o trastornos relacionados, los fármacos antidiabéticos adecuados incluyen, entre otros, insulina, pramlintida, agonistas del receptor de GLP-1, agentes antidiabéticos orales y similares. Los medicamentos antidiabéticos ejemplares incluyen, pero no se limitan a ellos, insulina, meglitinidas, por ejemplo,

repaglinida (Prandin™) y nateglinida (Starlix™); sulfonilureas, por ejemplo, glipizida (Glucotrol™), glimepirida (Amaryl™) y gliburida (DiaBeta™, Glynase™); inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), por ejemplo, saxagliptina (Onglyza™), sitagliptina (Januvia™) y linagliptina (Tradjenta™); biguanidas, por ejemplo, metformina (Fortamet™, Glucophage™); tiazolidindionas, por ejemplo, rosiglitazona (Avandia™) y pioglitazona (Actos™); inhibidores de alfa-glucosidasa, por ejemplo, acarbosa (Precose™) y miglitol (Glyset™); miméticos de amilina, por ejemplo pramlintida (Symlin™); y los miméticos de incretina, por ejemplo, exenatida (Byetta™) y liraglutida (Victoza™). Por lo tanto, en los métodos y usos de la invención para tratar la diabetes o afecciones relacionadas, se puede administrar un fármaco antidiabético con un péptido o análogo de la invención. Para la diabetes tipo 2, los agentes neogénicos de los islotes, como los péptidos o análogos de la invención, pueden utilizarse en pacientes con un buen nivel de control de la glucosa mediante modificación del estilo de vida o con una combinación de agentes antidiabéticos como la metformina, tiazolidindionas, GLP-1, insulina, y similares, como se describió anteriormente, para permitir la maduración de los islotes recién formados.

La diabetes tipo 1 y la diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA) son enfermedades autoinmunitarias. Por lo tanto, en el caso de un sujeto que tiene diabetes tipo 1 o LADA, otro agente terapéutico que se puede administrar con un péptido o un análogo de la invención puede ser, por ejemplo, un agente modulador inmunitario. El agente inmunomodulador puede usarse para bloquear o reducir la destrucción de las células neogénicas de los islotes o beta asociadas con la autoinmunidad. Los agentes inmunomoduladores ejemplares incluyen, pero no se limitan a ellos, sirolimus (rapamicina, Rapamune™), tacrolimus (FK 506, Prograf™), lisofilina, globulina antitímocítica, basiliximab (Simulect™), DiaPep277™ y similares. Se sabe que los islotes están sujetos a la toxicidad por glucosa, lipotoxicidad y ataque inmunitario (para T1D). Para la diabetes tipo 1, los agentes neogénicos de los islotes, como los péptidos o análogos de la invención, pueden utilizarse en pacientes con buen control glucémico y una combinación de agentes moduladores inmunes para proteger los islotes recientemente desarrollados del ataque inmunitario.

Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención presentan propiedades inesperadas sobre las de los péptidos INGAP-PP e HIP parentales. Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención presentan una mejor estabilidad en medio de cultivo y plasma con respecto a la del péptido original (véanse Ejemplo III y XI). Los análogos peptídicos de la invención también fueron efectivos para mejorar significativamente la glucosa en sangre, la insulina en ayunas y la tolerancia a la glucosa oral (véase el Ejemplo IV). Los análogos peptídicos de la invención también presentan un efecto neogénico insular significativamente mayor que el péptido parental (véanse Ejemplo V, Ejemplo VIII y Ejemplo IX). Además, los análogos peptídicos de la invención muestran una capacidad significativamente mayor para estimular la secreción de insulina en células de los islotes pancreáticos primarios (véase Ejemplo VI). Adicionalmente, los análogos peptídicos de la invención mostraron propiedades farmacocinéticas superiores (véanse los Ejemplos VII y X). Las numerosas propiedades inesperadas y superiores de los péptidos y análogos de la invención indican que los péptidos y análogos de la invención, que no son los péptidos INGAP-PP o HIP parentales, por ejemplo SEC ID N°: 12, pueden ser utilizados para aplicaciones terapéuticas.

Además, se encontró que los péptidos y análogos de la invención inducen racimos de células β positivas para el islote extra (véase el Ejemplo VIII). Los análogos de péptidos fueron efectivos a 1/10 de la dosis del péptido INGAP-PP parental. Además, los efectos de la neogénesis insular de los análogos de péptidos se determinaron según lo reflejado por la distribución del tamaño de los islotes pancreáticos (véase Ejemplo IX). Los análogos de péptidos fueron efectivos a 1/100 de la dosis del péptido INGAP-PP parental. Por lo tanto, los péptidos y análogos de la invención pueden mostrar una mayor potencia que el péptido INGAP-PP o HIP parental. Se sabe en la técnica que los islotes neogénicos pueden derivarse de células ductales o acinares pancreáticas (véase Yatoh et al., *Diabetes* 56: 1802 - 1809 (2007); Lipsett y Finegood, *Diabetes* 51: 1834 - 1841 (2002)). Por tanto, los péptidos y análogos de la invención pueden usarse para producir islotes neogénicos a partir de células ductales y/o acinares pancreáticas.

En otra realización, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para mejorar una señal o síntoma asociado con una función pancreática alterada, en donde el método comprende administrar un péptido o análogo de la invención. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para mejorar un signo o síntoma asociado con una función pancreática alterada, en donde el método comprende administrar un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. Una enfermedad o afección asociada con una función pancreática alterada incluye, pero no se limita a ellas, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA), glucosa en ayunas alterada, alteración de la tolerancia a la glucosa, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, o alteración de los niveles de insulina en ayunas, o una combinación de los mismos. El páncreas produce insulina para la regulación de la glucosa en sangre. En condiciones como la diabetes tipo 1 y tipo 2 y LADA, el cuerpo no puede responder normalmente a la producción de glucosa, lo que lleva a una serie de afecciones relacionadas (véase *Cecil Textbook of Medicine*, Bennett y Plum, eds., 20ª edición, WB Saunders, Filadelfia (1996); *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Fauci et al., Eds., 14ª ed., McGraw-Hill, Nueva York (1998)). Los expertos en la técnica entenderán que tales afecciones, que están correlacionadas con una función de disminución del páncreas, se incluyen dentro del significado de alteración de la función pancreática.

La diabetes mellitus es una grave enfermedad metabólica que se define por la presencia de niveles de glucosa en sangre elevados de forma crónica (hiperglucemia). Este estado de hiperglucemia es el resultado de una carencia

relativa o absoluta de actividad de la hormona peptídica, la insulina. La insulina es producida y secretada por las células β del páncreas. La insulina promueve la utilización de la glucosa, la síntesis de proteínas y la formación y almacenamiento de la energía de los carbohidratos como glucógeno. La glucosa se almacena en el cuerpo como glucógeno, una forma de glucosa polimerizada, que se puede convertir nuevamente en glucosa para cumplir con los requisitos del metabolismo. Bajo condiciones normales, la insulina se secreta tanto a una tasa basal como a tasas potenciadas después de la estimulación de la glucosa, todo para mantener la homeostasis metabólica mediante la conversión de la glucosa en glucógeno.

El término diabetes mellitus abarca varios estados hiperglucémicos diferentes. Estos estados incluyen diabetes de tipo 1 (diabetes mellitus dependiente de la insulina o IDDM) y diabetes de tipo 2 (diabetes mellitus no dependiente de la insulina o NIDDM). La hiperglucemia presente en individuos con diabetes tipo 1 se asocia con niveles deficientes, reducidos o inexistentes de insulina, que son insuficientes para mantener los niveles de glucosa en la sangre dentro del rango fisiológico. El tratamiento de la diabetes tipo 1 implica la administración de dosis de reemplazo de insulina, generalmente por vía parenteral. La hiperglucemia presente en individuos con diabetes tipo 2 se asocia inicialmente con niveles normales o elevados de insulina; sin embargo, estos individuos no son capaces de mantener la homeostasis metabólica debido a un estado de resistencia a la insulina en los tejidos periféricos y el hígado y, a medida que la enfermedad avanza, debido a un deterioro progresivo de las células β pancreáticas que son responsables de la secreción de insulina. Por lo tanto, la terapia inicial de la diabetes tipo 2 puede basarse en cambios en la dieta y en el estilo de vida, aumentados por la terapia con agentes hipoglucemiantes orales como las sulfonilureas. Sin embargo, a menudo se requiere terapia con insulina, especialmente en las últimas fases de la enfermedad, para producir cierto control de la hiperglucemia y minimizar las complicaciones de la enfermedad. Se sabe que, en la diabetes tipo 2, las células beta son susceptibles a la toxicidad de la glucosa, la lipotoxicidad, el estrés oxidativo crónico y sus combinaciones; en la diabetes tipo 1, las células β están sujetas principalmente a ataques inmunitarios y a la toxicidad de la glucosa. Un nivel de glucosa y lípidos en sangre relativamente estable puede proporcionar un ambiente más saludable para que los islotes neogénicos se conviertan en islotes maduros y funcionales para pacientes con diabetes tipo 2; para la diabetes tipo 1, agentes inmunomoduladores adicionales pueden proporcionar un ambiente fisiológico deseable para el desarrollo de islotes neogénicos.

La invención proporciona adicionalmente un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para mejorar un signo o síntoma asociado con una enfermedad metabólica en un sujeto, en donde el método comprende administrar al sujeto un péptido o análogo de la invención. Tal enfermedad metabólica incluye, pero no se limita a ellas, diabetes, pre-diabetes o síndrome metabólico. En una realización particular, la invención proporciona un método para mejorar un signo o síntoma asociado con una enfermedad metabólica en un sujeto, que comprende administrar un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12.

La prediabetes es una condición en la que el nivel de azúcar en la sangre es más alto de lo normal pero aún no es lo suficientemente alto como para ser clasificado como diabetes tipo 2. El síndrome metabólico es el nombre de un grupo de factores de riesgo que se presentan juntos y aumentan el riesgo de enfermedad arterial coronaria, accidente cerebrovascular y diabetes de tipo 2. Los dos factores de riesgo más importantes para el síndrome metabólico son el exceso de peso alrededor de las partes medias y superiores del cuerpo (obesidad central, llamada "forma de manzana") y la resistencia a la insulina, en la que el cuerpo usa la insulina con menos eficacia de lo normal. La insulina es necesaria para ayudar a controlar la cantidad de azúcar en el cuerpo. Como resultado, los niveles de azúcar y grasa en la sangre aumentan. Se considera que se presenta el síndrome metabólico si un sujeto tiene tres o más de los siguientes signos: presión sanguínea igual o superior a 130/85 mm Hg; glucemia en ayunas (glucosa) igual o mayor que 100 mg/dL; perímetro de la cintura grande (longitud alrededor de la cintura) (hombres, 101,6 cm (40 pulgadas) o más; mujeres, 88,9 cm (35 pulgadas) o más); colesterol HDL bajo (hombres, por debajo de 40 mg/dL; mujeres, por debajo de 50 mg/dL); triglicéridos igual o por encima de 150 mg/dL.

Un experto en la técnica entenderá fácilmente y puede determinar fácilmente los indicadores apropiados de la eficacia de los péptidos o análogos de la invención para mejorar un signo o síntoma asociado con una afección o enfermedad asociada con una función pancreática alterada y/o una enfermedad metabólica. Por ejemplo, tanto la diabetes tipo 1 como la diabetes tipo 2 son enfermedades bien caracterizadas con un número de parámetros conocidos para diagnosticar y/o monitorizar la progresión de la enfermedad y/o para monitorizar la efectividad de una terapia. Dichos parámetros incluyen, pero sin limitarse a ellos, niveles de glucosa en plasma, niveles de glucosa en ayunas, prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT), niveles de insulina, niveles de insulina en ayunas, niveles de hemoglobina glicosilada y similares.

Los péptidos o análogos de la invención pueden usarse por tanto en un método para mejorar uno cualquiera, o más de uno, de los signos o síntomas asociados a la función pancreática alterada y/o la enfermedad metabólica. En el caso de la diabetes, tales signos o síntomas incluyen, pero no se limitan a ellos, alteración de la tolerancia a la glucosa, aumento de la glucosa en sangre (en particular, por encima de 200 mg/dl), aumento de la glucosa en sangre en ayunas (en particular, por encima de 140 mg/dl), aumento de la glucosa postprandial en sangre (después de comer), deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, alteración de los niveles de insulina en ayunas, aumento de la hemoglobina glicosilada (HbA1c), y similares. Dichos signos o síntomas son bien conocidos por los expertos en la técnica y dichos expertos los pueden determinar de forma rutinaria, incluidas las pruebas disponibles por los laboratorios de pruebas médicas. En una realización de la invención, la invención proporciona un

péptido o análogo de la invención para su uso en un método para reducir un signo o síntoma asociado con una afección como la diabetes, por ejemplo un método para reducir la tolerancia a la glucosa alterada, la glucosa en sangre, en particular la concentración promedio diaria de glucosa en sangre, la glucosa en sangre en ayunas, glucosa en sangre postprandial (después de comer), deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, niveles de insulina en ayunas alterados, hemoglobina glicosilada (HbA1c), péptido C estimulado con arginina, productos finales de la glicación avanzada (AGE), o una combinación de los mismos, en donde el método comprende la administración de un péptido o un análogo de la invención. El método utiliza péptidos o análogos de la invención. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para reducir un signo o síntoma asociado con una condición tal como la diabetes, por ejemplo un método para reducir la tolerancia a la glucosa alterada, la glucosa en sangre, en particular la concentración promedio diaria de glucosa en sangre, la glucosa en sangre en ayunas, glucosa en sangre postprandial (después de comer), deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, alteración de los niveles de insulina en ayunas, hemoglobina glicosilada (HbA1c), péptido C estimulado con arginina, productos finales de glicación avanzada (AGE), o una combinación de ellos, en donde el método comprende administrar un péptido o análogo de SEQ ID N°: 12. Los métodos para monitorizar la efectividad de un medicamento para tratar la diabetes son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, *Cecil Textbook of Medicine, supra*; *Harrison's Principles of Internal Medicine supra*, Dungan et al., *Diabetes/Metabolism Res. Rev.* 25: 558 - 565 (2009); patente de Estados Unidos n° 8.329.648). Así pues, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para reducir en un sujeto diabético la alteración de la tolerancia a la glucosa, la glucemia, la glucemia en ayunas, la glucosa postprandial en sangre, la deficiencia de insulina, la hiperinsulinemia en ayunas, la resistencia a la insulina, los niveles de insulina en ayunas alterados, la hemoglobina glicosilada (HbA1c), el péptido C estimulado por la arginina, productos finales de glicación avanzada (AGE), o una combinación de los mismos, administrando al sujeto un péptido o análogo de la invención. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para reducir en un sujeto diabético la tolerancia a la glucosa, la glucosa en sangre, la glucosa en sangre en ayunas, la glucosa en sangre postprandial, la deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, alteración de los niveles de insulina en ayunas, hemoglobina glicosilada (HbA1c), péptido C estimulado con arginina, productos finales de la glucación avanzada (AGE), o una combinación de los mismos, en donde el método comprende la administración de un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12.

Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención fueron particularmente eficaces para estimular el crecimiento de células de los islotes pancreáticos y la inducción de racimos de células β (véanse Ejemplo V, Ejemplo VIII y Ejemplo IX). Los péptidos y análogos ejemplares de la invención mostraron un efecto neogénico indular mejorado sobre el péptido parental (Ejemplo V, Ejemplo VIII y Ejemplo IX).

Así pues, la invención proporciona adicionalmente un método para estimular el crecimiento de células de los islotes pancreáticos poniendo en contacto una célula de los islotes pancreáticos *in vitro* con un péptido o análogo de la invención, con lo que se estimula la proliferación de las células de los islotes pancreáticos. En una realización particular, la invención proporciona un método para estimular el crecimiento de células de los islotes pancreáticos poniendo en contacto una célula insular pancreática *in vitro* con un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. En otra realización, la invención proporciona un método de producción de una población de células de los islotes pancreáticos, que comprende poner en contacto una o más células de islotes pancreáticos *in vitro* con un péptido o análogo de la invención, con lo cual se estimula la proliferación de una o más células de los islotes pancreáticos y se produce una población de células de los islotes pancreáticos. En una realización particular, la invención proporciona un método para producir una población de células de los islotes pancreáticos, que comprende poner en contacto una o más células de los islotes pancreáticos *in vitro* con un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. Los métodos de la invención pueden usarse para la inducción, expansión y proliferación *ex vivo* de islotes para trasplantes. La invención proporciona también un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para aumentar la supervivencia de los islotes trasplantados *in vivo*. En una realización particular, el péptido o análogo de la invención es un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12.

Los métodos de la invención pueden usarse adicionalmente para preservar células aisladas de los islotes usando péptidos o análogos de la invención. En una realización particular, la invención proporciona un método para preservar células de islotes aisladas usando un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. Así pues, la invención proporciona métodos de expansión y proliferación insular *ex vivo* para trasplante utilizando los péptidos o análogos de la invención, poniendo en contacto células de los islotes *in vitro*, aumentando el número de células de los islotes y, opcionalmente, utilizando las células para el trasplante. En una realización particular, la invención proporciona un método de expansión y proliferación de islotes *ex vivo* para el trasplante utilizando los péptidos o análogos de la invención poniendo en contacto células de los islotes *in vitro*, aumentando el número de células de los islotes y, opcionalmente, usando las células para el trasplante al poner en contacto las células con un péptido o análogo de SEQ ID N°: 12. La invención proporciona también un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para aumentar la supervivencia de los islotes trasplantados *in vivo*, en donde el método comprende administrar a un sujeto un péptido o análogo de la invención, en el que el sujeto es el receptor de células de islotes trasplantados. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para aumentar la supervivencia de los islotes trasplantados *in vivo* en donde el método comprende administrar a un sujeto un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. Los péptidos o análogos de la invención pueden usarse entonces para generar células para trasplante usando métodos *in vitro* y *ex vivo*, así como para aumentar la supervivencia de las células de los islotes trasplantados.

Dichas células trasplantadas pueden obtenerse a partir de métodos *in vitro* utilizando los péptidos o análogos de la invención o de fuentes tradicionales de trasplante de células de los islotes, tales como los cadáveres. El péptido o análogo de la invención pueden usarse además en un método para tratar a un paciente con una pérdida o alteración de la función pancreática, en donde el método comprende la administración de un péptido o análogo de la invención.

5 Dicha pérdida o deterioro de la función pancreática puede ocurrir, por ejemplo, por pancreatectomía parcial, como por una lesión, inflamación, neoplasias, hipoglucemia hiperinsulinémica y similares, o por afecciones que afectan a la función del páncreas, como la fibrosis quística. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para tratar a un paciente con pérdida o alteración de la función pancreática, en donde el método comprende la administración de un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12.

10 En una realización particular, la célula o las células de los islotes pancreáticos se pueden obtener de un sujeto. La población de células de los islotes pancreáticos producida estimulando la proliferación de las células de los islotes pancreáticos se pueden usar, por ejemplo, para el trasplante en un sujeto y el restablecimiento de la función de las células de los islotes pancreáticos. Por tanto, un método como se describe en el presente texto puede comprender además la etapa de trasplantar la población de células de islotes pancreáticos en un sujeto. En una realización particular, una o más células pancreáticas se obtienen del sujeto en el que se va a trasplantar la población de células de los islotes pancreáticos. Alternativamente, las células de los islotes pancreáticos a trasplantar se obtienen de un donante adecuado que tiene un tipo de sangre compatible.

20 El trasplante de islotes pancreáticos se ha descrito con anterioridad (véase, por ejemplo, Shapiro et al., *N. Engl. J. Med.* 343: 230-238 (2000)). Las células de los islotes pancreáticos se pueden obtener del sujeto o, alternativamente, de un donante adecuado, incluidas las células de los islotes recogidas de un cadáver. En general, se le administran al receptor del trasplante medicamentos inmunosupresores para disminuir el rechazo de las células de los islotes (véase, por ejemplo, los medicamentos inmunosupresores descritos en este documento). El uso de fármacos inmunosupresores adecuados es bien conocido en el campo del trasplante de órganos o células. Por tanto, en los métodos de la invención en los que las células de los islotes pancreáticos se estimulan para que proliferen *in vitro* para producir una población de células de islotes pancreáticos, tal población puede trasplantarse a un sujeto usando métodos bien conocidos de trasplante de células de los islotes pancreáticos. Adicionalmente, los péptidos o análogos de la invención se pueden usar para inducir la diferenciación de células ductales pancreáticas en células insulares, en particular células beta (véase Yatoh et al., *Diabetes* 56: 1802 - 1809 (2007)). Por tanto, la invención proporciona además un método para diferenciar las células ductales pancreáticas en células insulares o de los islotes, poniendo en contacto una célula ductal pancreática con un péptido o análogo de la invención. En una realización particular, la invención proporciona un método de diferenciación de las células ductales pancreáticas en células de los islotes poniendo en contacto una célula ductal pancreática con un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. Cuando el método se realiza en el momento en que la célula ductal pancreática se pone en contacto *in vitro*, se puede generar una población de células ductales pancreáticas diferenciadas y utilizarlas para el trasplante, como se describe en el presente documento.

40 La invención proporciona además un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para aumentar el número de células de islotes pancreáticos en un sujeto, en donde el método comprende administrar al sujeto un péptido o análogo de la invención. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para aumentar el número de células insulares en un sujeto, en donde el método comprende administrar un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. Dicho método de tratamiento terapéutico usando péptidos o análogos de la invención puede emplearse para aumentar las células de los islotes pancreáticos en un individuo, sin necesidad de recolectar células pancreáticas del individuo o de identificar un donante adecuado, y sin necesidad de someter al sujeto a complejos procedimientos de trasplante y al uso de agentes inmunosupresores requerido frecuentemente si se utilizan células de donantes no obtenidas del paciente.

45 Como se describió anteriormente, se ha demostrado que el péptido INGAP mejora la función nerviosa y mejora la regeneración nerviosa en un modelo de ratón diabético (Tam et al., *FASEB J.* 18: 1767 - 1769 (2004)). También se demostró que el péptido INGAP mejora el crecimiento de neuritas en las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (Tam et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291: 649 - 654 (2002); Tam et al., *NeuroReport* 17: 189 - 193 (2006)). Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención son significativamente más activos que el péptido parental INGAP, y se espera que tengan una actividad similar pero más potente que la INGAP. Así pues, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, en donde el método comprende poner en contacto una célula nerviosa con un péptido o análogo de la invención, estimulando así la neuroprotección y/o la regeneración nerviosa. En una realización en particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, en donde el método comprende poner en contacto una célula nerviosa con un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. La puesta en contacto con una célula nerviosa puede ocurrir *in vivo* o *in vitro*. En el caso en que la célula nerviosa se pone en contacto *in vivo*, el péptido o análogo de la invención se administra a un sujeto como con otros métodos terapéuticos descritos en el presente documento. En el caso en que la célula nerviosa se pone en contacto *in vitro*, la célula neuroprotegida se puede usar en una aplicación *ex vivo* y se puede administrar la célula al sujeto. Dichos métodos de introducción de células nerviosas mediante trasplante son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Dunnett et al., *Brit. Med. Bulletin* 53: 757 - 776

(1997)). Tales trasplantes se han realizado para tratar afecciones neurológicas tales como la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington.

El péptido HIP se ha descrito como una regeneración hepática acelerada (Lieu et al., *Hepatology* 42: 618 - 626 (2005)). Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención son significativamente más activos que el péptido parental HIP y se espera que tengan una actividad similar pero más potente que la HIP. Por lo tanto, la invención también proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para promover la regeneración hepática, en donde el método comprende poner en contacto una célula hepática con un péptido o análogo de la invención, promoviendo así la regeneración hepática. En una realización particular, la invención proporciona un péptido o análogo de la invención para su uso en un método para promover la regeneración hepática, en donde el método comprende poner en contacto una célula hepática con un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12. La puesta en contacto con una célula hepática puede ocurrir *in vivo* o *in vitro*. En el caso en el que la célula hepática se pone en contacto *in vivo*, el péptido o análogo de la invención se administra a un sujeto como con otros métodos terapéuticos descritos en el presente documento. En el caso en que la célula hepática se pone en contacto *in vitro*, se puede inducir que las células hepáticas proliferen, por ejemplo, para producir una población de células hepáticas. La población de células hepáticas puede usarse en una aplicación *ex vivo* y las células pueden ser administradas al sujeto. Los métodos para trasplantar o injertar células hepáticas en el hígado de un sujeto son bien conocidos por los expertos en la técnica. Las células trasplantadas se pueden usar para reconstituir un tejido hepático lesionado o metabólicamente defectuoso. Las células hepáticas se pueden infundir en la vena porta o el bazo desde donde las células migran hacia el hígado y adoptan la residencia permanente y realizan las funciones metabólicas hepáticas normales (véase, por ejemplo, Khan et al., *Cell Transplant* 19: 409 - 418 (2010)).

Se ha encontrado que la proteína HIP (también denominada proteína asociada a la pancreatitis (PAP)) presenta una actividad antiinflamatoria *in vivo* e *in vitro* (Closa et al., *World J. Gastroenterol* 13: 170 - 174 (2007)). Por ello se espera que los péptidos y análogos de la invención muestren actividad antiinflamatoria. Así pues, la invención proporciona además un método para inhibir la inflamación administrando un péptido o análogo de la invención. En una realización en particular, la invención proporciona un método para inhibir la inflamación administrando un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12.

La invención también proporciona el uso de un péptido o análogo de la invención para la preparación de un medicamento para tratar la alteración de la función pancreática, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración del hígado, o inhibir la inflamación en un sujeto. En una realización en particular, la invención proporciona el uso de un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12 para la preparación de un medicamento para tratar la función pancreática alterada, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración hepática o inhibir la inflamación en un sujeto.

La invención proporciona adicionalmente el uso de un péptido o análogo de la invención para la preparación de un medicamento para tratar la función pancreática alterada, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración hepática o inhibir la inflamación en un sujeto. Tales usos pueden ser, por ejemplo, para llevar a cabo los métodos de la invención descritos en el presente documento. En una realización en particular, la invención proporciona el uso de un péptido o análogo de la SEC ID N°: 12 para la preparación de un medicamento para tratar la función pancreática alterada, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración del hígado o inhibir la inflamación en un sujeto.

Como se describe en el presente documento, los péptidos y análogos de la invención se pueden usar en diversos métodos. Tales métodos incluyen, entre otros, tratar la función pancreática alterada, tratar una enfermedad metabólica, promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa, promover la regeneración del hígado o inhibir la inflamación. En muchas aplicaciones de la invención para una aplicación terapéutica, se administran los péptidos o análogos de la invención. Sin embargo, se entiende que un modo alternativo es usar la terapia génica para expresar un péptido de la invención administrando un vector de terapia génica adecuado que contiene un ácido nucleico que codifica el péptido a un sujeto. Dichos métodos de terapia génica se describen a continuación con más detalle y son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Anderson, *Nature* 392 (Supp.): 25 - 30 (1998)).

Un vehículo de suministro de genes se refiere a una molécula que puede llevar polinucleótidos insertados en una célula hospedadora. Ejemplos de vehículos de suministro de genes son los liposomas, polímeros biocompatibles con micelas, que incluyen polímeros naturales y polímeros sintéticos; lipoproteínas; polipéptidos; polisacáridos; lipopolisacáridos; envoltantes virales artificiales; partículas metálicas; y bacterias, o virus, tales como baculovirus, adenovirus y retrovirus, bacteriófagos, cósmidos, plásmidos, vectores fúngicos y otros vehículos de recombinación usados típicamente en la técnica, que han sido descritos para la expresión en una variedad de hospedadores eucarióticos y procarióticos, y pueden usarse para la terapia génica, así como para la expresión de proteínas simples.

Un péptido o análogo de la invención puede suministrarse a una célula o tejido utilizando un vehículo de suministro de genes. Suministro de genes, transferencia de genes, transducción y similares, como se usan en este documento, son términos que se refieren a la introducción de un polinucleótido exógeno (a veces denominado transgén) en una célula

huésped, independientemente del método utilizado para la introducción. Tales métodos incluyen una variedad de técnicas bien conocidas, tales como la transferencia de genes mediada por vectores (p. ej. por infección/ transfección viral, u otros varios complejos de suministro de genes basados en proteínas o basados en lípidos), así como técnicas que facilitan la administración de polinucleótidos "desnudos" (como la electroporación, el suministro de "pistolas genéticas" y varias otras técnicas utilizadas para la introducción de polinucleótidos). El polinucleótido introducido puede mantenerse de forma estable o transitoria en la célula hospedadora. El mantenimiento estable requiere por regla general que el polinucleótido introducido contenga un origen de replicación compatible con la célula hospedadora o se integre en un replicón de la célula hospedadora, tal como un replicón extracromosómico (p. ej. un plásmido) o un cromosoma nuclear o mitocondrial. Se sabe que varios vectores son capaces de mediar la transferencia de genes a células de mamíferos, como se conoce en la técnica.

Un vector viral se refiere a un virus o una partícula viral producido de manera recombinante que comprende un polinucleótido para ser suministrado en una célula huésped, ya sea *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*. Los ejemplos de vectores virales incluyen vectores retrovirales, vectores de adenovirus, vectores de virus adenoasociados, vectores de alfavirus y similares. Los vectores de alfavirus, como los vectores basados en el virus Semliki Forest y los vectores basados en el virus Sindbis, también se han desarrollado para su uso en terapia génica e inmunoterapia (véase Schlesinger y Dubensky *Curr. Opin. Biotechnol.* 5: 434 - 439 (1999) y Ying, et al., *Nat. Med.* 5 (7): 823 - 827 (1999)).

En aspectos en los que la transferencia génica está mediada por un vector retroviral, una construcción de vector se refiere al polinucleótido que comprende el genoma retroviral o parte del mismo, y un gen terapéutico. Como se usa en este documento, la transferencia génica mediada por retrovirus o transducción retroviral lleva el mismo significado y se refiere al proceso mediante el cual un gen o secuencias de ácido nucleico se transfieren de manera estable a la célula hospedadora en virtud de que el virus ingresa a la célula e integra en su genoma en el genoma de la célula hospedadora. El virus puede entrar en la célula hospedadora a través de su mecanismo de infección normal o puede modificarse de tal manera que se una a un receptor o ligando de la superficie de la célula hospedadora diferente para entrar en la célula. Como se usa en el presente documento, el vector retroviral se refiere a una partícula viral capaz de introducir ácido nucleico exógeno en una célula a través de un mecanismo de entrada viral o de tipo viral. Los retrovirus llevan su información genética en forma de ARN; sin embargo, una vez que el virus infecta una célula, el ARN se transcribe inversamente en forma de ADN que se integra en el ADN genómico de la célula infectada. La forma de ADN integrada se denomina provirus.

En aspectos en los que la transferencia de genes está mediada por un vector viral de ADN, tal como un adenovirus (Ad) o un virus adenoasociado (AAV), un constructo vectorial se refiere al polinucleótido que comprende el genoma viral o parte del mismo, y un transgén. Los adenovirus (Ads) son un grupo de virus homogéneos y relativamente bien caracterizados, que incluyen más de 50 serotipos (véase, por ejemplo, el documento WO 95/27071). Los Ads no requieren integración en el genoma de la célula hospedadora. También se han construido vectores derivados de Ad recombinantes, en particular los que reducen el potencial de recombinación y generación de virus de tipo silvestre (véanse, por ejemplo, los documentos WO 95/00655 y WO 95/11984). El AAV de tipo silvestre tiene una alta infectividad y especificidad que se integra en el genoma de la célula hospedadora (véanse, por ejemplo, Hermonat y Muzyczka, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6466 - 6470 (1984) y Lebkowski et al., *Mol. Cell. Biol.* 8: 3988 - 3996 (1988)).

Los vectores que contienen tanto un promotor como un sitio de clonación en el que un polinucleótido puede estar unido operativamente, son bien conocidos en la técnica. Dichos vectores son capaces de transcribir ARN *in vitro* o *in vivo*, y están disponibles comercialmente de fuentes tales como Stratagene (La Jolla, California) y Promega Biotech (Madison, WI). Para optimizar la expresión y/o la transcripción *in vitro*, puede ser necesario eliminar, agregar o alterar porciones no traducidas de 5' y/o 3' de los clones para eliminar posibles codones de iniciación de la traducción extra alternativos inapropiados, u otras secuencias que puedan interferir con la expresión, o reducirla, ya sea a nivel de transcripción o de traducción. Alternativamente, los sitios de unión con el ribosoma de consenso pueden insertarse inmediatamente en 5' del codón de inicio para mejorar la expresión.

Los vehículos de suministro génico también incluyen complejos de ADN/liposoma, micelas y complejos de proteína viral-ADN dirigidos. Los liposomas que también comprenden un anticuerpo de direccionamiento o un fragmento del mismo se pueden usar en los métodos de esta invención. Para mejorar el suministro a una célula, las proteínas de esta invención pueden conjugarse con anticuerpos o fragmentos de unión de los mismos que se unen a antígenos de la superficie de la célula, por ejemplo un marcador de superficie celular que se encuentra en las células de los islotes pancreáticos.

También se describe en el presente texto un método para introducir en un sujeto un péptido o análogo como se describe en el presente texto, poniendo en contacto una célula con un ácido nucleico que codifica un péptido o análogo como se describe en el presente texto. La puesta en contacto de una célula con el ácido nucleico puede ocurrir *in vitro*, para aplicaciones *ex vivo* o *in vivo*. Tales métodos se denominan con frecuencia métodos de terapia génica. Cuando la célula se pone en contacto *in vitro*, pueden administrarse al sujeto las células que expresan el polinucleótido. Tales métodos permiten la expresión de una proteína o péptido terapéutico, como los péptidos o análogos como se describen en el presente texto, para aplicaciones terapéuticas. Tales aplicaciones terapéuticas pueden usarse para tratar diversas enfermedades y afecciones, que incluyen, pero sin limitarse a ellas, el tratamiento de la alteración de la función pancreática, el tratamiento de una enfermedad metabólica, la promoción de la neuroprotección o la

regeneración nerviosa, la promoción de la regeneración del hígado o la inhibición de la inflamación, como se describe en este documento.

Se entiende que las modificaciones que no afectan sustancialmente a la actividad de las diversas realizaciones de esta invención también se proporcionan dentro de la definición de la invención que se proporciona en este documento. Por consiguiente, los ejemplos que siguen pretenden ilustrar, pero no limitar, la presente invención.

Ejemplo I

Producción de péptidos y análogos de péptidos.

Este ejemplo describe la producción de péptidos y análogos de péptidos.

Todos los péptidos utilizados en los estudios se sintetizaron mediante síntesis de péptidos en fase sólida utilizando la química del 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc). En resumen, una cantidad pesada previamente de resina de cloruro de 2-clorotritilo (1,6 mmol/g) se hinchó en diclorometano (DCM). Para los péptidos con un término C amidado, se usó resina de amida de Rink en vez de resina de cloruro de 2-clorotritilo. Se utilizaron aminoácidos preactivados con Fmoc para las reacciones de acoplamiento en presencia de hidroxibenzotriazol (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.) en dimetilformamida (DMF). Se usaron aminoácidos en exceso en toda la síntesis. Se realizó la reacción de alargamiento de la cadena seguida de la desprotección de Fmoc en piperidina al 20% en DMF. Cuando acabó la reacción de alargamiento de la cadena, los grupos protectores Fmoc se eliminaron del término N de los péptidos con piperidina al 25% en DMF, seguido de lavado con DMF cuatro veces. Para los péptidos con un extremo N acetilado, antes de la escisión con ácido trifluoroacético (TFA), se añadió una solución de anhídrido acético al 20% disuelto en DMF en una proporción de 7 mL/g de resina, se hizo reaccionar durante 30 minutos, seguido de 4 lavados con DMF y DCM. Después de cuatro lavados con DMF y DCM, la resina se secó a vacío. Posteriormente, los péptidos preparados se escindieron de la resina usando procedimientos estándar de escisión con TFA en TFA con 5% de H₂O seguido de múltiples extracciones con éter. Todos los péptidos sintéticos se purificaron a > 95% mediante cromatografía líquida de alta presión en fase inversa realizada con un cromatógrafo de líquidos. Los péptidos fueron analizados por espectrometría de masas para confirmar la identidad y la pureza.

Para estudios *in vitro* y *ex vivo*, los péptidos preparados anteriormente se disolvieron en agua bidestilada para preparar una solución madre, y en el estudio de eficacia *in vivo* se reconstituyeron en solución salina normal estéril para alcanzar la concentración deseada. La solución de péptido final se filtró a través de una membrana de 0,22 µm para hacerla estéril.

Los péptidos y análogos pueden producirse también usando otros métodos bien conocidos, incluida la elaboración de péptidos usando un método de síntesis de péptidos o que expresan ácidos nucleicos que codifican los péptidos o análogos de péptidos deseados. Por tanto, cuando los análogos incluyen uno o más aminoácidos no estándar, es más probable que se produzcan mediante un método de síntesis química. Cuando los péptidos incluyen solo una o más sustituciones con aminoácidos estándar, los péptidos pueden expresarse a partir de un vector de expresión usando métodos de expresión bien conocidos.

Los péptidos particulares utilizados en los experimentos que siguen se pueden encontrar en las Tablas 1 - 3.

Ejemplo II

Efecto estimulador de los péptidos sobre la proliferación celular.

Este ejemplo describe el efecto de los péptidos y análogos sobre el crecimiento de las células pancreáticas.

Para medir la proliferación celular, se realizó un ensayo ELISA de bromodesoxiuridina (BrdU). Brevemente, se cultivaron células ARIP (ATCC (American Type Culture Collection), Manassas VA, EE. UU.), una línea de células ductales pancreáticas de rata, en medio F-12K (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, EE. UU.) que contenía un 10% de suero bovino fetal (FBS; HyClone, Thermo Fisher Scientific Inc.; Waltham MA EE. UU.), 100 µg/ml de estreptomycin y 100 µg/ml de penicilina en una incubadora de células. Las células ARIP se sembraron en placas de cultivo de 96 pocillos a 8.000 o a 0 (como control en blanco) células por pocillo, en un volumen de 50 µl de medio de cultivo celular y se incubaron durante la noche para los siguientes experimentos. En el segundo día, después de reemplazar el medio con medio sin suero, se añadieron a las células sembradas 50 µl de medio de cultivo celular libre de suero que contiene péptidos de ensayo en una serie de concentraciones (las concentraciones finales fueron 10 µM, 5 µM, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM y 1 nM). Se añadió medio sin compuesto a los pocillos de control negativo y de control de base. El medio se reemplazó a las 24 h y a las 48 h, respectivamente, con medio fresco. A las 69 horas, el medio se complementó con 10 µl de solución de marcado de bromodesoxiuridina (BrdU) (excepto los pocillos de control de base) de un *kit* ELISA de proliferación celular BrdU (Roche Applied Science; Indianapolis IN EE. UU.) y se incubó durante 3 horas adicionales. A las 72 horas, el medio de marcado se eliminó y se agregaron 200 µl/pocillo de solución FixDenat. Al cabo de 30 minutos de tiempo de incubación, la solución de FixDenat se eliminó completamente y se agregaron 100 µl/pocillo de solución de trabajo del anticuerpo anti-BrdU y se incubaron a temperatura ambiente (RT)

durante 90 minutos. El conjugado de anticuerpo se eliminó y los pocillos se enjuagaron tres veces con 250 µl/pocillo de solución de lavado (1 x PBS). Después de eliminar la solución de lavado, se agregaron 100 µl/pocillo de solución de sustrato y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 min, luego se añadieron 25 µl/pocillo de H₂SO₄ 1 M, y la placa se incubó durante aproximadamente 1 min en el agitador para mezclar minuciosamente. Se midió la absorbancia a 450 nm (longitud de onda de referencia 690 nm) en un lector de placas EnVision™ (Perkin Elmer, Boston Mass.) dentro de los 5 minutos después de la adición de la solución de parada.

Para probar la viabilidad celular, se realizó un ensayo CellTiter-Glo™ (CTG) (Promega, Madison WI). Brevemente, se cultivaron células ARIP (ATCC, n° de cat. CRL-1674) en medio F-12K (Gibco-BRL) que contenía 10% de suero bovino fetal (FBS; HyClone), 100 µg/ml de estreptomicina y 100 µg/ml de penicilina en una incubadora de células. Las células ARIP se sembraron en placas de cultivo de 96 pocillos a 8.000 y a 0 (como control en blanco) células por pocillo en el volumen de 50 µl de medio de cultivo celular, y se incubaron durante la noche para los siguientes experimentos. En el segundo día, después de reemplazar el medio con medio sin suero, se añadieron a las células sembradas 50 µl de medio de cultivo celular libre de suero que contiene péptidos de prueba a una serie de concentraciones (las concentraciones finales fueron 10 µM, 5 µM, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM y 1 nM). Se añadió medio sin compuesto a los pocillos de control negativo y de control de fondo. El medio se reemplazó a las 24 h y a las 48 h, respectivamente, por medio fresco. A las 72 horas, se agregaron 25 µl de reactivo CellTiter-Glo® a cada pocillo y se mezclaron en un agitador orbital durante 2 minutos. La señal de luminiscencia se cuantificó en un lector de placas EnVision™ después de una incubación de 10 minutos a temperatura ambiente.

La figura 1 muestra la comparación de la proliferación de células ARIP en presencia de 100 nM de INGAP Scrambled PP 1 (Péptido de Referencia 3), INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y Péptido 7 (péptidos mostrados en la Tabla 2). La figura 1 muestra que hubo un aumento en el número de células a una concentración de péptido de 100 nM. El Péptido 7 mostró un aumento porcentual significativamente mayor en el número de células en comparación con el péptido revuelto (Scrambled) INGAP, un control negativo y el péptido INGAP-PP.

Ejemplo III

Estudios de la estabilidad de péptidos.

Este ejemplo describe los estudios de la estabilidad de péptidos en diversas condiciones.

Para determinar la estabilidad de los péptidos en el medio de cultivo, se pesó con precisión una cierta cantidad de péptidos seleccionados y se disolvió en agua destilada a 5 mg/ml como solución madre. La solución madre se diluyó a 0,25 mg/ml con medio F-12K (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, EE. UU.) como solución de trabajo. Se transfirió un volumen de 100 µL de cada solución de trabajo a viales de muestra individuales. Los viales de muestra se incubaron en una incubadora a 37 °C durante 0, 24, 48 y 72 horas antes de ser analizados y cuantificados por HPLC.

La figura 2 muestra la estabilidad de los compuestos en el medio de cultivo. En particular, la figura 2 muestra una comparación de la estabilidad en el medio de cultivo de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 7 y Péptido de Referencia 8 (véase la Tabla 2). Como se muestra en la figura 2, los análogos de péptido Péptido 7 y Péptido de Referencia 8 fueron significativamente más estables que el péptido INGAP-PP en el medio de cultivo.

La estabilidad de los péptidos también se probó en plasma de ratón y humano. Dicho brevemente, se pesó con precisión una cierta cantidad de péptidos y polvo de eucatropina (control positivo). Los compuestos de ensayo se disolvieron en una solución de metanol-agua al 50% y se diluyeron a 20 mg/mL, y la eucatropina se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) y se diluyó a 10 mM, como solución madre. La solución madre de eucatropina se diluyó a 0,2 mM con DMSO como solución de trabajo. Se preparó un reactivo de parada que contenía 200 ng/mL de midazolam y tolbutamida en acetonitrilo. Se añadió un volumen de 300 µl de solución de parada a cada pocillo de una placa de pocillos profundos de 96 pocillos puesta en hielo de antemano.

Para los estudios de estabilidad, los péptidos y la eucatropina fueron picados en plasma respectivamente, se mezclaron bien y luego se transfirieron 100 µL de cada solución de mezcla al reactivo de parada pre-enfriado como muestra para el tiempo 0. Las mezclas restantes se incubaron en un baño de agua a 37 °C con agitación a 100 rpm (n = 2). La concentración final de incubación fue 1 µM para la eucatropina y 100 µg/ml para todos los compuestos de prueba.

A los valores del tiempo deseados, se transfirieron 100 µL de la mezcla de incubación al reactivo de parada para precipitar las proteínas. Las muestras se agitaron en vórtex y se centrifugaron a RCF 5000 x g durante 10 minutos, y el sobrenadante se transfirió a una placa de ensayo. Las muestras fueron analizadas por LC-MS/MS.

La pendiente se calculó representando el logaritmo natural del porcentaje de la cantidad restante de compuestos de prueba y el tiempo, y se calculó T_{1/2} de acuerdo con la siguiente fórmula.

$$T_{1/2} = 0,693 / - \text{pendiente}$$

Para la estabilidad en plasma de ratón, el tiempo de incubación fue de 0, 5, 15, 30 y 60 minutos para el Péptido de Referencia 1 y la eucatropina; 0, 15, 30, 60, 120, 240 y 480 min para el Péptido 12, el Péptido de Referencia 16 y el Péptido 29. La figura 3 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma de ratón. En particular, la figura 3 muestra una comparación de la estabilidad en plasma de ratón de INGAP-PP (Péptido 1) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 12, Péptido de Referencia 16 y Péptido 29 (véase la Tabla 2). Como se muestra en la FIG. 3, los análogos peptídicos de Péptido 12, Péptido de Referencia 16 y Péptido 29 mostraron una buena estabilidad en el plasma de ratón y fueron más estables que el INGAP-PP (Péptido 1).

En otro estudio de estabilidad en plasma de ratón, el tiempo de incubación fue 0, 30, 60 y 120 min para el Péptido de Referencia 2 y la eucatropina; 0, 30, 60, 120, 240 y 960 min para el Péptido 52 y el Péptido de Referencia 54. La figura 5 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma de ratón. En particular, la figura 5 muestra una comparación de la estabilidad en plasma de ratón de HIP (Péptido de Referencia 2) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 52 y Péptido de Referencia 54 (véase la Tabla 3). Como se muestra en la figura 5, los análogos de péptido Péptido 52 y Péptido de Referencia 54 mostraron una buena estabilidad en el plasma de ratón y fueron significativamente más estables que el HIP (Péptido 2).

Para la estabilidad en plasma humano, el tiempo de incubación fue de 0, 30, 60 y 120 minutos para el Péptido de Referencia 1, Péptido 12, Péptido de Referencia 16 y eucatropina. La figura 4 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma humano. En particular, la figura 4 muestra una comparación de la estabilidad en plasma humano de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 12 y Péptido de Referencia 16 (véase la Tabla 2). Como se muestra en la figura 4, análogos de péptido Péptido 12 y Péptido de Referencia 16 mostraron una buena estabilidad en el plasma humano y fueron significativamente más estables que el INGAP-PP (Péptido de Referencia 1).

Estos resultados demuestran que varios análogos de péptidos presentan una buena estabilidad en diversas condiciones, incluidos el medio de cultivo y el plasma murino y humano, y muestran una estabilidad superior sobre los péptidos INGAP-PP y HIP.

Ejemplo IV

Eficacia de los análogos de péptidos en un modelo de ratón diabético.

Este ejemplo describe un estudio de eficacia *in vivo* que utiliza un modelo de ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina (STZ).

Después de la aclimatación en las instalaciones de animales durante una semana, se administró STZ en dosis bajas a ratones C57BL/6J de 6 - 8 semanas de edad a razón de 40 mg/kg en tampón de citrato durante 5 días consecutivos, para establecer un modelo animal T1D. Se incluyeron en el estudio ratones con glucemia superior a 16,7 mmol/L a los 5 días después de la última inyección de STZ. Estos ratones se trataron luego con INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) o Péptido 7 en dosis de 5 mg/kg (2,5 mg/kg, bid (dos veces al día)) o 25 mg/kg (12,5 mg/kg, bid) durante 20 días antes de los sacrificios. Dos grupos adicionales de ratones diabéticos recibieron solución salina o un péptido (Péptido de Referencia 3) compuesto por una secuencia revuelta de aminoácidos del Péptido 1 como grupos de control. Se midieron los niveles en sangre de glucosa e insulina, y 20 días después de la última dosis de los agentes de prueba se realizó una prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) en animales en ayunas de 6 horas para determinar el efecto del Péptido de Referencia 1 y el Péptido 7. Las muestras de sangre obtenidas del corte de la cola para la determinación de glucosa se detectaron con un glucómetro ACCU-CHEK™ (Roche, ACCU-CHEK® Active) y los niveles de insulina se determinaron con el *kit* Rat/Mouse Insulin Elisa (Millipore, Billerica, MA, EE. UU.). Para OGTT, después de la medición de la concentración basal de glucosa (T = -30 min), los ratones recibieron una carga de glucosa oral de 2 g/kg y los valores de glucosa se determinaron mediante un glucómetro a 0, 15, 30, 60, 90 y 120 min.

La figura 6 muestra la comparación de la eficacia de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1), INGAP Scrambled PP 1 (Péptido de Referencia 3) y Péptido 7 en el modelo de ratones diabéticos inducidos por STZ. La figura 6A muestra la glucemia (BG, mM) en el día 21 de tratamiento. La figura 6B muestra los niveles de insulina en ayunas (ng/ml) en el día 21 de tratamiento. La figura 6C muestra el área bajo la curva (AUC) de la glucosa (T_{0-120 min}) medida en una prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) en el día 21 del tratamiento.

La administración de Péptido de Referencia 1 y Péptido 7 (5 mg/kg o bien 25 mg/kg) durante 20 días no afectó al peso corporal ni al peso del páncreas. Se demostraron diferencias significativas en los niveles de glucosa en sangre entre el Péptido 7 administrado en el grupo de ratones y el grupo de control con solución salina (figura 6A). Además, uno de los resultados más sorprendentes fue que los niveles de insulina en plasma de los animales tratados con el Péptido 7 (grupo de dosis de 25 mg/kg) al final del período de 20 días eran significativamente diferentes de los controles de solución salina y casi se restablecieron al nivel de grupo naive (figura 6B). Además, los grupos tratados con el Péptido 7 también demostraron una tolerancia a la glucosa mejorada (figura 6C).

Estos resultados demuestran que un análogo peptídico representativo, el péptido 7, fue eficaz para mejorar los signos y síntomas de la diabetes en un modelo de ratón diabético.

Ejemplo V

El efecto de los péptidos en la inducción de pequeños racimos de células β .

Este ejemplo describe los efectos de los péptidos en la inducción de pequeños racimos de células β en ratones C57BL/6J normales.

5 Después de una aclimatación de 1 semana, los ratones hembra C57BL/6J se dividieron aleatoriamente en 4 grupos. Los dos grupos de control recibieron 10 mL/kg de solución salina estéril normal (n = 4) o bien péptido revuelto (Péptido 3, 25 mg/kg) (n = 5) mediante inyección subcutánea durante 10 días. Los otros dos grupos recibieron INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) o análogo de INGAP-PP Péptido 7 en una dosis de 25 mg/kg por día respectivamente (n = 7 por grupo) durante el mismo período. El peso corporal y la glucemia en ayunas de 6 horas se midieron antes del tratamiento y después de la última dosis del tratamiento. La insulina en plasma y pancreática se midieron también al final del estudio. El día 11, se extirpó el páncreas de cada animal, se eliminó la grasa y los ganglios linfáticos, se pesó y se fijó en formalina tamponada neutra al 10% (NBF) durante no más de 24 horas antes del procesamiento para el análisis morfométrico.

15 En comparación con el grupo de solución salina, la administración de Péptido de Referencia 3, Péptido 1 o Péptido de Referencia 7 a ratones normales durante 10 días no afectó al peso corporal, a la glucemia, a la insulina plasmática, a la insulina pancreática, ni al peso del páncreas. Se utilizó análisis inmunohistoquímico para determinar la distribución del tamaño de los islotes pancreáticos. La figura 7 muestra la distribución del tamaño de los islotes pancreáticos en ratones hembra C57BL/6J a los 10 días de tratamiento con péptidos. Para el tamaño del islote (expresado como log [μm^2]) que oscila entre 4,9 y 2,3, no hubo diferencia para cada grupo, mientras que para el tamaño del islote entre 2,1 y 0,7 las cifras aumentaron significativamente en los ratones tratados con el Péptido 7 ($p < 0,05$ o $0,01$ frente al grupo naïve/control) (figura 7). El aumento en los ratones tratados con el Péptido de Referencia 1 solo se observó en un tamaño de islote de 2,1 ($p < 0,05$ frente al grupo naïve/control).

25 Estos resultados indicaron el efecto neogénico de los islotes mejorado de los análogos de INGAP-PP diseñados. Cabe destacar que entre todos los parámetros medidos no hubo diferencias para los ratones tratados con solución salina normal o péptido revuelto.

Ejemplo VI

El efecto de los péptidos sobre la secreción de insulina estimulada con glucosa.

Este ejemplo describe el efecto de los péptidos sobre la secreción de insulina estimulada con glucosa (GSIS).

30 Se obtuvieron los páncreas de ratas macho adultas Sprague-Dawley (SD). Después de 7 días de aclimatación, los animales se sacrificaron por dislocación cervical, se extirpó todo el páncreas y se digirió con collagenasa para aislar los islotes. Después de la digestión, los islotes se mantuvieron a 37 °C en RPMI 1640 (Carlsbad CA, EE. UU.) pH 7,4, que contenía 10% (v/v) de suero de ternera fetal, 1% de penicilina/estreptomicina y glucosa 10 mM en una atmósfera húmeda (5% CO_2 /95% O_2), sin la adición de ningún compuesto (control), o con la adición de péptido-1 (GLP-1) 100 nM similar al glucagón; o 10 μM /mL de Péptido de Referencia 1, Péptido 12 o Péptido de Referencia 16, como se resume en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4. Parámetros para varios grupos ensayados en relación con la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS).

	1	2	3	4	5	6
A	Glucosa 1,5 mM	Glucosa 12 mM	Glucosa 12 mM; GLP-1 100 nM	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 1	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 12	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 16
B	Glucosa 1,5 mM	Glucosa 12 mM	Glucosa 12 mM; GLP-1 100 nM	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 1	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 12	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 16
C	Glucosa 1,5 mM	Glucosa 12 mM	Glucosa 12 mM; GLP-1 100 nM	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 1	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 12	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 16
D	Glucosa 1,5 mM	Glucosa 12 mM	Glucosa 12 mM; GLP-1 100 nM	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 1	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 12	Glucosa 12 mM; 10 $\mu\text{g/ml}$ *Péptido 16

* = como referencia

40 Los islotes cultivados se enjuagaron en tampón de bicarbonato Krebs-Ringer (KRB), pH 7,4, previamente gaseado con una mezcla de CO_2/O_2 (5/95%), y se preincubaron en 1,0 ml de KRB que contenía 0,5% (p/v) de BSA y glucosa 1,5 mM a 37 °C durante 45 min. Después de este período, se incubaron grupos de 5 islotes en 0,6 ml de KRB con la

adición de glucosa 1,5 o 12,0 mM, con o sin la adición de péptidos durante 60 min. Al final del período de incubación, se recogieron partes alícuotas del medio para análisis cuantitativo de la insulina.

Los resultados del análisis cuantitativo de la insulina se muestran en la figura 8. La figura 8 muestra el aumento de la secreción de insulina estimulada por la glucosa, de los islotes con o sin co-incubación de péptidos seleccionados (10 µg/mL), Péptido 12, Péptido de Referencia 16 y Péptido de Referencia 1. La co-incubación con péptido-1 similar al glucagón 100 nM (GLP-1) se incluyó como control positivo. A una concentración de glucosa de 12,0 mM, los islotes pancreáticos cultivados con péptidos GLP-1, Péptido 12 y Péptido de Referencia 16 liberaron significativamente más insulina que los cultivados sin la adición de péptidos. En particular, los análogos de INGAP-PP, Péptido 12 y Péptido de Referencia 16, mostraron una estimulación de la secreción de insulina 2 - 3 veces mayor que GLP-1. En cambio, no se observó estimulación con la adición de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) (figura 8).

Estos resultados demuestran que los análogos de INGAP-PP estimularon la secreción de insulina por las células de los islotes pancreáticos.

Ejemplo VII

Propiedades farmacocinéticas de los péptidos en rata y ratón.

Este ejemplo describe las propiedades farmacocinéticas (PK) *in vivo* de péptidos en rata y ratón.

Después de 7 días de aclimatación, se utilizaron en el estudio ratas Sprague-Dawley (SD) macho que pesaban 210 - 250 g, o ratones C57BL/6 macho, que pesaban 19 - 24 g, en buen estado de salud. El Péptido de Referencia 1, el Péptido 12 y el Péptido de Referencia 16 se disolvieron en solución salina normal estéril y luego se inyectaron mediante un bolo subcutáneo (sc) o un bolo intravenoso (iv) a un nivel de dosis de 25 mg/kg. Se utilizaron tres animales de cada grupo para la extracción de sangre en los momentos correspondientes a los tiempos de 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h después de la dosis. Se recogieron muestras de sangre (aproximadamente 400 µL), se pusieron en tubos que contenían EDTA-K2 y se centrifugaron a 8000 rpm durante 6 minutos a 4 °C para separar el plasma de las muestras. El plasma resultante se almacenó congelado a -80 °C hasta su análisis.

Las concentraciones plasmáticas de los péptidos se determinaron mediante el análisis de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS). Se usó un módulo no compartimental de WinNonlin® Professional 5.2 (Pharsight; St. Louis MO) para calcular los parámetros PK. Los parámetros PK seleccionados se presentan en la Tabla 5 a continuación. La abreviatura $AUC_{(0-t)}$ representa el área bajo la curva desde el momento de la dosificación hasta el momento de la última observación, la $AUC_{(0-\infty)}$ representa el área bajo la curva desde el momento de la dosificación hasta el infinito, y C_{max} representa concentración máxima detectada.

Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos en ratones y ratas tratados.

Estudio	Ratón (SC)			Rata (SC)			Rata (IV)		
	$AUC_{(0-t)}$ µg/L*hr	$AUC_{(0-\infty)}$ µg/L*hr	C_{max} µg/L	$AUC_{(0-t)}$ µg/L*hr	$AUC_{(0-\infty)}$ µg/L*hr	C_{max} µg/L	$AUC_{(0-t)}$ µg/L*hr	$AUC_{(0-\infty)}$ µg/L*hr	C_{max} µg/L
Péptido 1#	54.5	58.3	140.9	298.5	305.1	1238.0	21.9	27.1	48.7
Péptido 2	5873.1	5888.2	11600.7	8423.3	8480.0	14024.2	12632.5	12633.8	44312.7
Péptido 6#	11350.6	11354.4	14376.4	12127.1	12202.7	18907.7	12191.6	12192.7	45194.9

= como referencia

En comparación con INGAP-PP (Péptido de Referencia 1), los análogos peptídicos Péptido 12 y Péptido de Referencia 16 mostraron propiedades PK notablemente mejoradas, lo que se evidencia por el aumento significativo del área bajo las curvas (AUC) de la concentración de plasma en el tiempo y la concentración máxima (C_{max}) en ratones y rata.

Estos resultados demuestran que los análogos de péptidos INGAP-PP presentaron propiedades farmacocinéticas significativamente mejoradas sobre INGAP-PP.

Ejemplo VIII

Efecto de los péptidos en la inducción de racimos de células β positivas para la insulina de islotes extra.

Este ejemplo describe los efectos de los péptidos en la inducción de racimos de células β positivas para la insulina de islotes extra en ratones C57BL/6J normales.

Después de una aclimatación de 1 semana, los ratones hembra C57BL/6J se dividieron aleatoriamente en 6 grupos (n = 5 por grupo). El grupo de control recibió 10 mL/kg de solución salina normal estéril mediante inyección subcutánea durante 10 días consecutivos. Los otros cinco grupos recibieron INGAP-PP (Péptido 1) o análogos INGAP-PP Péptido 12, Péptido de Referencia 16, Péptido 29 o Péptido de Referencia 31 en una dosis de 50 mg/kg o 5 mg/kg por día,

respectivamente, durante el mismo período. El día 11 se extirpó el páncreas de cada animal, se eliminó la grasa y los ganglios linfáticos, se pesó y se fijó en formalina tamponada neutra al 10% (NBF) durante no más de 24 horas antes del procesamiento para análisis morfométrico.

Se usó análisis inmunohistoquímico para evaluar las actividades neogénicas de los péptidos de los islotes, midiendo el número y el área de los racimos de células β positivas a la insulina del islote extra (EIC) de los tejidos pancreáticos extirpados de cada racimo individual después de 10 días de tratamiento. El EIC es indicador de la neogénesis de los islotes, como fue descrito anteriormente por Lipsett y Finegood (*Diabetes* 51: 1834 - 1841 (2002)).

En comparación con el grupo tratado con solución salina, hubo un aumento significativo del número y área de EIC en los grupos tratados con péptidos. La figura 9A muestra el número de EIC en ratones C57BL/6J hembra después de 10 días de tratamiento. La figura 9B muestra el área total de EIC en ratones hembra C57BL/6J después de 10 días de tratamiento. La figura 9C muestra un EIC asociado ductal representativo en el páncreas después de la administración de péptido INGAP-PP o análogo de INGAP-PP. Los grupos tratados con INGAP-PP o análogo de INGAP-PP mostraron un aumento significativo en el número de EIC y el área de EIC en comparación con el grupo tratado con solución salina. Es llamativo que el número de EIC y el área en el grupo tratado con el Péptido de Referencia 31 (5 mg/kg) son estadísticamente mayores que los del grupo tratado con INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) (50 mg/kg) ($p < 0,05$).

Los resultados demostraron las actividades biológicas de INGAP-PP y sus análogos en la estimulación de la neogénesis insular en ratones normales después de 10 días de tratamiento. Es importante destacar que, para los grupos tratados con el Péptido 12 o el Péptido de Referencia 31, se logró una eficacia comparable, o mejorada, a una dosis de una décima parte de INGAP-PP, lo que indica una potencia mejorada de los análogos de INGAP-PP.

Ejemplo IX

Efecto de los péptidos sobre la neogénesis insular reflejado por la distribución de tamaños de los islotes pancreáticos.

Este ejemplo describe los efectos de la neogénesis insular de los péptidos reflejados por la distribución del tamaño de los islotes pancreáticos en ratones C57BL/6J normales.

Después de una aclimatación de 1 semana, los ratones C57BL/6J hembra se dividieron aleatoriamente en 4 grupos ($n = 6$ por grupo). El grupo de control recibió 10 mL/kg de solución salina normal estéril, mediante inyección subcutánea durante 10 días consecutivos. Los otros tres grupos recibieron INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) en la dosis de 25 mg/kg/día o el Péptido 12 análogo de INGAP-PP o Péptido de Referencia 31 en la dosis de 0,25 mg/kg/día, respectivamente, durante el mismo período. Se utilizaron dosis diferentes de INGAP-PP o análogos de INGAP-PP en el estudio basado en la dosis eficaz de INGAP-PP conocido en la técnica y las caracterizaciones de las propiedades farmacocinéticas de los análogos de INGAP-PP. El día 11, se extrajo el páncreas de cada animal, se eliminó la grasa y los ganglios linfáticos, y se fijó en formalina tamponada neutra al 10% (NBF) durante no más de 24 horas antes del procesamiento para el análisis inmunohistoquímico. Las secciones positivas teñidas con insulina se rastrearón y se cuantificaron utilizando un software de análisis de imágenes (microscopio Olympus DP70 conectado mediante una cámara de video a una computadora equipada con el software Image-Pro Plus versión 6.0), y se llevó a cabo el análisis de distribución del tamaño de los islotes.

En comparación con los grupos tratados con solución salina, los ratones tratados con INGAP-PP o análogos de INGAP-PP durante 10 días mostraron un desplazamiento hacia el tamaño de islote pequeño mostrado en la figura 10. En particular, hay aproximadamente un 50% de aumento para el tamaño de los islotes menor que $1.000 \mu\text{m}^2$ en los grupos tratados con péptidos (60% de la población de los islotes en el grupo tratado con péptidos frente al 40% en el grupo de solución salina), mientras que no hay diferencia para el tamaño de los islotes entre 1.000 y $5.000 \mu\text{m}^2$, y aproximadamente el 50% de disminución para el tamaño de islotes superior a $5.000 \mu\text{m}^2$ (aproximadamente el 10% de la población de islotes en el grupo tratado con péptidos frente al 20% en el grupo de la solución salina).

Estos resultados muestran que INGAP-PP y los análogos de INGAP-PP mostraron un desplazamiento hacia el tamaño de islote pequeño. Además, los análogos de INGAP-PP probados mostraron la actividad a 1/100 de la dosis de INGAP-PP.

Ejemplo X

Propiedades farmacocinéticas de los péptidos en ratas SD.

Este ejemplo describe las propiedades farmacocinéticas (PK) *in vivo* de péptidos después de una única administración subcutánea (sc) a ratas SD.

Después de 7 días de aclimatación, se usaron en el estudio un total de 15 ratas Sprague-Dawley (SD) macho (peso corporal: 230 a 270 g) en buen estado de salud, procedentes de SIPPR/BK Lab Animal Ltd, Shanghai. Todos los péptidos, Péptido de Referencia 1, Péptido 12, Péptido de Referencia 16, Péptido 29 o Péptido de Referencia 31, se

disolvieron en solución salina normal estéril, respectivamente, para dar las concentraciones finales deseadas, y se administraron a través de una única dosis subcutánea (sc). La información detallada de los estudios farmacocinéticos se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6. Información de grupo y dosificación para estudios farmacocinéticos (PK).

Número del grupo	Sexo	Número de animales	Artículo de ensayo	Nivel de dosis (mg/kg)
1	Macho	3	Péptido 1*	25
2	Macho	3	Péptido 12	25
3	Macho	3	Péptido 16*	25
4	Macho	3	Péptido 29*	25
5	Macho	3	Péptido 31*	25

* = como referencia

Tres animales de cada grupo se utilizaron para la extracción de sangre en los momentos correspondientes a 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h y 24 h después de la dosis. Las muestras de sangre (aproximadamente 400 µL) se recogieron y se pusieron en tubos que contenían EDTA-K2 (ácido etilendiaminatetraacético-dipotasio) y se centrifugaron a 8.000 rpm durante 6 minutos a 4 °C para separar el plasma de las muestras. El plasma resultante se almacenó congelado a -80°C hasta que fue analizado.

Las concentraciones plasmáticas de los péptidos se determinaron usando el análisis de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS). Se usó un módulo no compartimental de WinNonlin® Professional 5.2 (Pharsight; St. Louis MO) para calcular los parámetros PK. Los parámetros PK seleccionados se presentan en la Tabla 7 a continuación. $AUC_{(0-t)}$ representa el área bajo la curva desde el momento de la dosificación hasta el momento de la última observación, el $AUC_{(0-\infty)}$ representa el área bajo la curva desde el momento de la dosificación hasta el infinito, y C_{max} representa la concentración máxima detectada.

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos seleccionados en ratas Sprague-Dawley después de la administración subcutánea.

Péptido de prueba	Sexo	Nivel de dosis	$AUC_{(0-t)}$	$AUC_{(0-\infty)}$	C_{max}
	Macho/Hembra	mg/kg	µg/L*hr	µg/L*hr	µg/L
Péptido 1 *	Macho	25	294.13±124.80	297.86±122.41	1188.86±609.56
Péptido 12	Macho	25	11063.21±1366.62	11160.28±1211.17	21363.99±1354.43
Péptido 16 *	Macho	25	11177.17±1884.33	11179.40±1883.66	22055.34±5872.06
Péptido 29	Macho	25	14432.93±1005.09	14435.76±1003.61	16285.43±2522.07
Péptido 31 *	Macho	25	15562.38±1529.00	15563.32±1528.94	25975.89±3098.76

* = como referencia

En comparación con INGAP-PP (Péptido de Referencia 1), los análogos Péptido 12, Péptido de Referencia 16, Péptido 29 y Péptido de Referencia 31 mostraron propiedades PK mejoradas, como pone de evidencia el aumento significativo de AUC y C_{max} en ratas SD del mismo sexo y al mismo nivel de dosis.

Para caracterizar mejor las propiedades farmacocinéticas (PK) de los péptidos, la concentración de péptido en el páncreas, órgano diana, se determinó 30 minutos después de la dosis. Brevemente, se disolvió INGAP-PP (Péptido de Referencia 1), Péptido 12 o Péptido de Referencia 31 en solución salina normal estéril y luego se administró mediante bolo subcutáneo (sc) a un nivel de dosis de 25 mg/kg a ratas Sprague-Dawley (SD) macho. Se usaron cinco animales de cada grupo para la recolección de sangre y páncreas en el momento correspondiente a los 30 minutos después de la dosis. Se recogieron muestras de sangre (aproximadamente 400 µL), se pusieron en tubos que contenían EDTA-K2 y se centrifugaron a 8.000 rpm durante 6 minutos a 4 °C para separar el plasma de las muestras. Después de la extracción de sangre y del sacrificio del animal, el páncreas se extrajo inmediatamente de cada animal, se eliminó la grasa y los ganglios linfáticos, se pesó y se colocó en un volumen de 5 veces de solución salina normal estéril enfriada con hielo con un cóctel inhibidor de proteasas (Merck Millipore, n° de catálogo 539137) para homogeneizar con un homogeneizador.

La concentración de péptido del homogeneizado plasmático y pancreático se determinó inmediatamente mediante el análisis de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y los resultados se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentración de péptidos en plasma y páncreas.

Tipo de muestra	Concentración de péptido (ng/mL)		
	Péptido 1 *	Péptido 12	Péptido 31 *
Plasma	209.81±107.08	5374.81±980.67	15356.49±3516.52
Páncreas	NA	877.22±261.07	1633.48±339.93

NA: por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) 2,5 ng/mL

* = como referencia

- 5 En comparación con INGAP-PP (Péptido 1), los análogos peptídicos Péptido 12 y Péptido 31 mostraron propiedades de PK mejoradas puestas de evidencia por el aumento significativo en la concentración de plasma y páncreas.

Estos resultados demostraron que, en comparación con INGAP-PP, los análogos de péptido INGAP-PP mostraron propiedades farmacocinéticas *in vivo* significativamente mejoradas.

Ejemplo XI

- 10 Estudios de la estabilidad de péptidos.

Este ejemplo describe los estudios de la estabilidad de péptidos en diversas condiciones.

- 15 Para determinar la estabilidad de los péptidos en el medio de cultivo, se pesó con precisión una cierta cantidad de péptidos seleccionados y se disolvió en agua destilada a 5 mg/mL como solución madre. La solución madre se diluyó a 0,25 mg/mL con medio F-12K (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, EE.UU.) como solución de trabajo. Se transfirió un volumen de 100 µL de cada solución de trabajo a viales de muestra individuales. Los viales de muestra se incubaron en una incubadora a 37 °C durante 0, 24, 48 y 72 horas antes de ser analizados y cuantificados por HPLC.

- 20 La figura 11 muestra la estabilidad de los compuestos en el medio de cultivo. En particular, la figura 11 muestra una comparación de estabilidad en medio de cultivo de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptidos seleccionados, Péptido 12 y Péptido de Referencia 16. Como se muestra en la figura 11, los análogos de péptidos Péptido 12 y Péptido de Referencia 16 fueron significativamente más estables que el péptido INGAP-PP en el medio de cultivo.

- 25 La estabilidad de los péptidos también se probó en plasma de rata, ratón y humano. Brevemente, se pesó con precisión una cierta cantidad de péptidos y polvo de eucatropina (control positivo). Los compuestos de ensayo se disolvieron en una solución de metanol-agua al 50% y se diluyeron a 20 mg/mL, y la eucatropina se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) y se diluyó a 10 mM, como solución madre. La solución madre de eucatropina se diluyó a 0,2 mM con DMSO como solución de trabajo. Se preparó un reactivo de parada que contenía 200 ng/mL de midazolam y tolbutamida en acetonitrilo. Se añadió un volumen de 300 µL de solución de parada a cada pocillo de una placa de 96 pocillos profundos puesta en hielo de antemano.

- 30 Para los estudios de estabilidad, los péptidos y la eucatropina se añadieron al plasma respectivamente, se mezclaron bien y luego se transfirieron 100 µL de cada solución de mezcla al reactivo de parada previamente enfriado como muestra correspondiente al tiempo 0. Las mezclas restantes se incubaron en un baño de agua a 37 °C con agitación a 100 rpm (n = 2). La concentración de incubación final fue 1 µM para la eucatropina y 100 µg/mL para todos los compuestos de prueba.

- 35 En los momentos deseados, se transfirieron 100 µL de la mezcla de incubación al reactivo de parada para precipitar las proteínas. Las muestras se agitaron en vórtex y se centrifugaron a RCF 5.000 X g durante 10 minutos, y el sobrenadante se transfirió a una placa de ensayo. Las muestras fueron analizadas por LC-MS/MS.

La pendiente se calculó representando el logaritmo natural del porcentaje de la cantidad restante de compuestos de prueba y el tiempo, y se calculó $T_{1/2}$ de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$T_{1/2} = 0,693 / - \text{pendiente}$$

- 40 Para la estabilidad en el plasma de rata, el tiempo de incubación fue 0, 15, 30, 60 y 120 min para el Péptido de Referencia 1 y la eucatropina, y 0, 15, 30, 60, 120 y 240 min para el Péptido 12, el Péptido de Referencia 16, el Péptido 29 y el Péptido de Referencia 31. La figura 12 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma de rata. En particular, la figura 12 muestra una comparación de la estabilidad en plasma de rata de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptidos seleccionados, Péptido 12, Péptido de Referencia 16, Péptido 29 y Péptido de Referencia 31. Como se muestra en la figura 12, análogos peptídicos Péptido 12, el péptido de Referencia 16, el Péptido 29 y el Péptido de Referencia 31 mostraron una buena estabilidad en el plasma de rata y fueron más estables que el INGAP-PP (Péptido de Referencia 1).

En otro estudio de estabilidad en plasma de rata, el tiempo de incubación fue 0, 30, 60 120 y 240 min para el Péptido de Referencia 2, Péptido 52, Péptido de Referencia 64 y eucatropina. La figura 13 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma de rata. En particular, la figura 13 muestra una comparación de la estabilidad en plasma de rata de HIP (Péptido de Referencia 2) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 52 y Péptido de Referencia 62. Tal como se muestra en la figura 13, los análogos de péptidos Péptido 52 y Péptido de Referencia 62 mostraron una buena estabilidad en el plasma de rata y fueron significativamente más estables que el HIP (Péptido de Referencia 2).

Para la estabilidad en plasma de ratón, el tiempo de incubación fue de 0, 15, 30, 60 y 120 minutos para el Péptido de Referencia 1 y la eucatropina; 0, 15, 30, 60, 120 y 240 minutos para el Péptido de Referencia 31. La figura 14 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma de ratón. En particular, la fig. 14 muestra una comparación de estabilidad en plasma de ratón de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y Péptido de Referencia 31. Como se muestra en la figura 14, el Péptido de Referencia 31 presentó una buena estabilidad en el plasma de ratón y fue más estable que el INGAP-PP (Péptido de Referencia 1).

Para la estabilidad en plasma humano, el tiempo de incubación fue de 0, 15, 30, 60, 120 y 240 minutos para el Péptido de Referencia 1, el Péptido 29, el Péptido de Referencia 31 y la eucatropina. La figura 15 muestra la estabilidad de los compuestos en plasma humano. En particular, la figura 15 muestra una comparación de estabilidad en plasma humano de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) y análogos de péptido seleccionados, Péptido 29 y Péptido de Referencia 31. Como se muestra en la figura 15, los análogos de péptidos Péptido 29 y Péptido de Referencia 31 presentaron una buena estabilidad en el plasma humano y fueron significativamente más estables que el INGAP-PP (Péptido de Referencia 1).

La estabilidad del péptido en tampones se probó para INGAP-PP y análogos seleccionados. Se disolvieron 10 mg/mL de Péptido de Referencia 1, Péptido 12, Péptido de Referencia 16, Péptido 29 o Péptido de Referencia 31 en tampones isotónicos con un pH que oscila entre 4,0 y 8,0. Similar al Péptido de Referencia 1, se encontró que el Péptido 16 y el Péptido de Referencia 31 eran más estables en tampones con un pH de 4,0 a 6,0, mientras que el Péptido 12 y el Péptido 29 eran más estables en tampones con un pH entre 6,0 y 8,0. Un estudio adicional para evaluar la estabilidad del péptido en los tampones encontró que el Péptido 16 y el Péptido de Referencia 31 eran estables en un tampón isotónico de acetato (pH 5,0) durante un tiempo de hasta 90 días a 4 °C y menos de 7 días a 25 °C. El Péptido 12 y el Péptido 29 fueron estables en un tampón isotónico de fosfato (pH 7,4) durante más de 90 días a 4 °C (no hubo ningún signo de degradación a los 90 días del punto de control de la muestra), y 60 días a 25 °C.

Estos resultados demuestran que varios análogos de péptidos presentan buena estabilidad bajo condiciones diversas, incluyendo medio de cultivo, rata, ratón y plasma humano, y presentan una estabilidad superior sobre los péptidos INGAP-PP e HIP.

Ejemplo XII

Sistemas de liberación sostenida para suministro de acción prolongada.

Este ejemplo describe el uso de diversos materiales biocompatibles y biodegradables para desarrollar sistemas de liberación sostenida de INGAP-PP y análogos para aplicaciones clínicas de INGAP-PP y análogos.

Se evaluó polímero biocompatible que contiene un segmento de poli (etilenglicol) (PEG) a una concentración de 0,5% p/p a 20% p/p del peso final de la composición, α -ciclodextrina a una concentración de 5% p/p a 15% p/p del peso final de la composición, INGAP-PP y/o sus análogos a una concentración de 0,1% p/p a 20% p/p del peso final de la composición, y solución salina tamponada con fosfato (PBS). También se puede incorporar polímero biocompatible que contiene un segmento de PEG, por ejemplo Pluronic F127, Pluronic F38, Pluronic F68, Pluronic F87, Pluronic F108, Jeffamine ED-2003 y análogo para formar el sistema de hidrogel supramolecular. El PEG, el polímero biocompatible que contiene el segmento de PEG y la α -ciclodextrina se pueden disolver solos o en forma premezclada, el INGAP-PP y/o sus análogos se pueden dispersar directamente en PBS, luego se mezclan con la mezcla de PEG. La solución mixta se somete luego a sonicación para formar un hidrogel. La figura 16 muestra una curva de liberación representativa de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) *in vitro* de hidrogel que contiene Pluronic F127. La figura 17 muestra una curva de liberación representativa de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) *in vitro* de hidrogel que contiene Jeffamine ED-2003.

También se evaluó un sistema de liberación sostenida con la composición de acetato isobutirato de sacarosa (SAIB), INGAP-PP y/o sus análogos, y un disolvente. Las formulaciones útiles comprenden SAIB a una concentración de 45% p/p a 85% p/p del peso final de la composición, INGAP-PP y/o sus análogos a una concentración de 0,1% p/p a 20% p/p del peso final de la composición, y el resto es un disolvente. El disolvente se puede seleccionar entre etanol, acetona, acetato de etilo o cualquier otro disolvente que pueda disolver SAIB. La figura 18 muestra una curva representativa de liberación de INGAP-PP (Péptido de Referencia 1) *in vitro* del sistema de gel SABER.

Los sistemas de liberación sostenida descritos anteriormente demostraron la viabilidad de las formas de dosificación de liberación con acción prolongada de INGAP-PP o sus análogos.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> SHENZHEN HIGHTIDE BIOPHARMACEUTICAL, LTD.

5 <120> COMPOSICIONES Y MÉTODOS DE USO DE PÉPTIDOS DE NEOGÉNESIS INSULAR Y ANÁLOGOS DE LOS MISMOS

<130> 224994-600001

10 <140>
<141>

<150> PCT/CN2013/072771
<151> 15-03-2013

15 <160> 110

<170> PatentIn versión 3.5

20 <210> 1
<211> 15
<212> PRT
<213> Cricetulus sp.

25 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

30 <400> 1
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

35 <210> 2
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

45 <400> 2
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

50 <210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

55 <220>
<223> H N-terminal

60 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 3
Ser His Pro Asn Gly Ser Gly Thr Ile Gly Leu His Asp Pro Leu
1 5 10 15

5 <210> 4
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

 10 <220>
 <223> H N-terminal

 15 <220>
 <223> OH C-terminal

 <400> 4
 Ser Ser Thr Gly Gly Gly Asp Ile Pro Pro His Leu Leu His Asn
 1 5 10 15

 20 <210> 5
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

 <220>
 <223> H N-terminal

 30 <220>
 <223> OH C-terminal

 <400> 5
 Asp Gly Gly Thr Pro Gln Pro Gly Asn Trp Ile Glu Leu Thr His
 1 5 10 15

 35 <210> 6
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

 45 <220>
 <223> H N-terminal

 <220>
 <223> OH C-terminal

 50 <400> 6
 Ile Gly Leu His Ala Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
 1 5 10 15

 55 <210> 7
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 60 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

 <220>
 <223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 7
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
5 1 5 10 15

<210> 8
<211> 15
<212> PRT
10 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal
20

<400> 8
Ile Gly Leu His Ala Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

<210> 9
<211> 16
<212> PRT
25 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
30

<220>
<223> H N-terminal

35 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 9
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Lys
1 5 10 15
40

<210> 10
<211> 15
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

50 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
55 <223> Aib

<220>
<223> OH C-terminal

60 <400> 10
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Xaa Gly Ser
1 5 10 15

5 <210> 11
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 10 <220>
 <223> H N-terminal
 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> N-metil-L-alanina
 <220>
 <223> OH C-terminal
 20 <400> 11
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 1 5 10 15
 25 <210> 12
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 30 <220>
 <223> Ac N-terminal
 35 <220>
 <223> OH C-terminal
 <400> 12
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 1 5 10 15
 40 <210> 13
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> H N-terminal
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> D-Isoleucina
 55 <220>
 <223> OH C-terminal
 <400> 13
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 60 1 5 10 15
 <210> 14
 <211> 15

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> H N-terminal

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> L-NorValina

15 <220>
 <223> OH C-terminal

<400> 14
 Val Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 1 5 10 15

20 <210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30 <220>
 <223> H N-terminal

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 35 <223> L-NorLeucina

<220>
 <223> OH C-terminal

40 <400> 15
 Leu Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 1 5 10 15

45 <210> 16
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> Ac N-terminal

55 <220>
 <223> OH C-terminal

<400> 16
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
 1 5 10 15

60 <210> 17
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<221> MOD_RES
10 <222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucina

<220>
<223> OH C-terminal

15 <400> 17
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 18
20 <211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
25 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

30 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 18
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Glu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

35 <210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
45 <223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

50 <400> 19
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser Gln Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

<210> 20
55 <211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 20
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
5 1 5 10 15

<210> 21
<211> 15
<212> PRT
10 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

20 <400> 21
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 22
25 <211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
30 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

35 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 22
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Lys
40 1 5 10 15

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
45 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
50 <223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

55 <400> 23
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Lys
1 5 10 15

<210> 24
60 <211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

5

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 24
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Glu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

10

<210> 25
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

20

<220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

25

<400> 25
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser Gln Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

30

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

40

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 26
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

45

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

55

<220>
<223> OH C-terminal

60

<400> 27
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

5
 <210> 28
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

10
 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>
 <223> NH2 C-terminal

15
 <400> 28
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
 1 5 10

20
 <210> 29
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

25
 <220>
 <223> Ac N-terminal
 <220>
 <223> NH2 C-terminal

30
 <400> 29
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 1 5 10 15

35
 <210> 30
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> Ac N-terminal

45
 <220>
 <223> NH2 C-terminal
 <400> 30
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly

50
 1 5 10

55
 <210> 31
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

60
 <220>
 <223> Ac N-terminal
 <220>

<223> NH2 C-terminal

<400> 31
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
 1 5 10 15

5

<210> 32
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15

<220>
 <223> H N-terminal

<220>
 <223> NH2 C-terminal

20

<400> 32
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 33
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30

<220>
 <223> H N-terminal

35

<220>
 <223> OH C-terminal

<400> 33
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
 1 5 10 15

40

<210> 34
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> Ac N-terminal

50

<220>
 <223> OH C-terminal

<400> 34
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
 1 5 10 15

55

<210> 35
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

5

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 35
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
1 5 10 15

10

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

15

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

20

<220>
<223> Ac N-terminal

<220>
<223> NH2 C-terminal

25

<400> 36
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
1 5 10 15

30

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

40

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 37
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

45

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> Ac N-terminal

55

<220>
<223> OH C-terminal

60

<400> 38
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
1 5 10 15

5 <210> 39
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 10 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>
 <223> NH2 C-terminal
 15 <400> 39
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
 1 5 10 15
 <210> 40
 <211> 15
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 25 <220>
 <223> Ac N-terminal
 <220>
 30 <223> NH2 C-terminal
 <400> 40
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Cys
 1 5 10 15
 35 <210> 41
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> H N-terminal
 45 <220>
 <223> NH2 C-terminal
 <400> 41
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
 50 1 5 10 15
 <210> 42
 <211> 16
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 60 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>

<223> OH C-terminal

<400> 42
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
 1 5 10 15

5

<210> 43
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15

<220>
 <223> Ac N-terminal

<220>
 <223> OH C-terminal

20

<400> 43
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
 1 5 10 15

<210> 44
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30

<220>
 <223> H N-terminal

35

<220>
 <223> NH2 C-terminal

<400> 44
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
 1 5 10 15

40

<210> 45
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> Ac N-terminal

50

<220>
 <223> NH2 C-terminal

<400> 45
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser Cys
 1 5 10 15

55

<210> 46
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

<220>

<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

5

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 46
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

10

<210> 47
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

20

<220>
<223> Ac N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

25

<400> 47
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

30

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

40

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 48
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

45

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> Ac N-terminal

55

<220>
<223> NH2 C-terminal

60

<400> 49
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

ES 2 703 110 T3

5 <210> 50
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 10 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>
 <223> OH C-terminal
 15 <400> 50
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
 1 5 10 15
 <210> 51
 <211> 15
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 25 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>
 30 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Aib
 <220>
 35 <223> OH C-terminal
 <400> 51
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Xaa Gly Glu
 1 5 10 15
 40 <210> 52
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> Ac N-terminal
 50 <220>
 <223> OH C-terminal
 <400> 52
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
 55 1 5 10 15
 <210> 53
 <211> 15
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucina

10 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 53
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

15 <210> 54
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

25 <220>
<223> Ac N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

30 <400> 54
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

35 <210> 55
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

45 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> D-Isoleucina

50 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 55
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

55 <210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

60 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>

<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

5 <400> 56
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

10 <210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

20 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 57
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

25 <210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

35 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

40 <400> 58
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

50 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

55 <400> 59
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Leu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

60 <210> 60
<211> 14
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5

<220>
<223> Ac N-terminal

10

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 60
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly
1 5 10

15

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> Ac N-terminal

25

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 61
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

30

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

40

<220>
<223> Ac N-terminal

<220>
<223> NH2 C-terminal

45

<400> 62
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
1 5 10 15

50

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

60

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 63

ES 2 703 110 T3

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Thr	Gln	Gly	Thr	Glu	Pro	Asn	Gly	Glu
	1				5					10					15

5

<210> 64
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15

<220>
 <223> H N-terminal

15

<220>
 <223> OH C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Thr	Gln	Gly	Thr	Glu	Pro	Asn	Gly	Cys
	1				5					10					15

20

<210> 65
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30

<220>
 <223> Ac N-terminal

30

<220>
 <223> OH C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Thr	Gln	Gly	Thr	Glu	Pro	Asn	Gly	Cys
	1				5					10					15

35

<210> 66
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

45

<220>
 <223> H N-terminal

50

<220>
 <223> NH2 C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Thr	Gln	Gly	Thr	Glu	Pro	Asn	Gly	Cys
	1				5					10					15

55

<210> 67
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>

<223> Ac N-terminal
 <220>
 <223> NH2 C-terminal
 5
 <400> 67
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Asn Gly Cys
 1 5 10 15
 <210> 68
 10 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> H N-terminal
 20 <220>
 <223> NH2 C-terminal
 <400> 68
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Glu
 1 5 10 15
 25 <210> 69
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 35 <223> H N-terminal
 <220>
 <223> OH C-terminal
 40 <400> 69
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
 1 5 10 15
 <210> 70
 45 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 50 <220>
 <223> Ac N-terminal
 <220>
 55 <223> OH C-terminal
 <400> 70
 Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
 1 5 10 15
 60 <210> 71
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5

<220>
<223> H N-terminal

10

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 71
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

15

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> Ac N-terminal

25

<220>
<223> NH2 C-terminal

<400> 72
Ile Gly Leu His Asp Pro Thr Gln Gly Thr Glu Pro Ala Gly Cys
1 5 10 15

30

<210> 73
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

40

<400> 73
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
1 5 10

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

50

<400> 74
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

60

<220>

<223> Ac N-terminal

<400> 75
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
 1 5 10

5

<210> 76
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> NH2 C-terminal

15

<400> 76
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
 1 5 10

20

<210> 77
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> Ac N-terminal

30

<220>
 <223> NH2 C-terminal

<400> 77
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
 1 5 10

35

<210> 78
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
 <223> H N-terminal

45

<220>
 <223> OH C-terminal

50

<400> 78
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Gln Gly Ser
 1 5 10 15

55

<210> 79
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

60

<220>

<223> H N-terminal
 <220>
 <223> OH C-terminal
 5
 <400> 79
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asp Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 80
 10 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> H N-terminal
 20 <220>
 <223> OH C-terminal
 <400> 80
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Glu Gly Ser
 1 5 10 15
 25 <210> 81
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 35 <223> H N-terminal
 <220>
 <223> OH C-terminal
 40 <400> 81
 Ile Gly Leu His Glu Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
 1 5 10 15
 <210> 82
 45 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 50 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>
 55 <223> OH C-terminal
 <400> 82
 Ile Gly Leu His Gln Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
 1 5 10 15
 60 <210> 83
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5

<220>
<223> H N-terminal

10

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 83
Ile Gly Leu His Asn Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser
1 5 10 15

15

<210> 84
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

25

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 84
Ile Gly Leu His Glu Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

30

<210> 85
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

40

<220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

45

<400> 85
Ile Gly Leu His Gln Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly Ser
1 5 10 15

50

<210> 86
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

60

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 86

ES 2 703 110 T3

	Ile	Gly	Leu	His	Asn	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Gly	Ser
	1				5					10					15

5

<210> 87
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15

<220>
 <223> H N-terminal

15

<220>
 <223> OH C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Gln	Gly	Ser	Cys
	1				5					10					15	

20

<210> 88
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30

<220>
 <223> H N-terminal

30

<220>
 <223> OH C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Asp	Gly	Ser	Cys
	1				5					10					15	

35

<210> 89
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

45

<220>
 <223> H N-terminal

50

<220>
 <223> OH C-terminal

50

<400> 89

	Ile	Gly	Leu	His	Asp	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Glu	Gly	Ser	Cys
	1				5					10					15	

55

<210> 90
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60

<220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>

<223> H N-terminal
 <220>
 <223> OH C-terminal
 5
 <400> 90
 Ile Gly Leu His Glu Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
 1 5 10 15
 <210> 91
 10 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 <223> H N-terminal
 20 <220>
 <223> OH C-terminal
 <400> 91
 Ile Gly Leu His Gln Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
 1 5 10 15
 25 <210> 92
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 <220>
 35 <223> H N-terminal
 <220>
 <223> OH C-terminal
 40 <400> 92
 Ile Gly Leu His Asn Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Ser Cys
 1 5 10 15
 <210> 93
 45 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético
 50 <220>
 <223> H N-terminal
 <220>
 55 <223> OH C-terminal
 <400> 93
 Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Gln Gly
 1 5 10
 60 <210> 94
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5

<220>
<223> H N-terminal

10

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 94
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asp Gly
1 5 10

15

<210> 95
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

25

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 95
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Glu Gly
1 5 10

30

<210> 96
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

40

<220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

45

<400> 96
Ile Gly Leu His Glu Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

50

<210> 97
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

60

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 97

Ile Gly Leu His Gln Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

<210> 98
<211> 14
5 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

10 <220>
<223> H N-terminal

15 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 98
Ile Gly Leu His Asn Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly
1 5 10

20 <210> 99
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 99
Ile Gly Leu His Glu Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
35 1 5 10

<210> 100
<211> 14
<212> PRT
40 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

45 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

50 <400> 100
Ile Gly Leu His Gln Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
1 5 10

<210> 101
55 <211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
60 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>

<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

5 <400> 101
Ile Gly Leu His Asn Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Ala Gly
1 5 10

10 <210> 102
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

20 <220>
<223> OH C-terminal

<400> 102
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Gln Gly Glu
1 5 10 15

25 <210> 103
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

35 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

40 <400> 103
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asp Gly Glu
1 5 10 15

<210> 104
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

50 <220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

55 <400> 104
Ile Gly Leu His Asp Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Glu Gly Glu
1 5 10 15

60 <210> 105
<211> 15
<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

5

<220>
<223> H N-terminal

10

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 105
Ile Gly Leu His Glu Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

15

<210> 106
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

25

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 106
Ile Gly Leu His Gln Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

30

<210> 107
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

40

<220>
<223> H N-terminal

<220>
<223> OH C-terminal

45

<400> 107
Ile Gly Leu His Asn Pro Ser His Gly Thr Leu Pro Asn Gly Glu
1 5 10 15

50

<210> 108
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220>
<223> H N-terminal

60

<220>
<223> OH C-terminal

<400> 108

	Ile	Gly	Leu	His	Glu	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Gly	Glu
	1				5					10					15

5 <210> 109
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

15 <220>
 <223> H N-terminal

 <220>
 <223> OH C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Gln	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Gly	Glu
	1				5					10					15

20 <210> 110
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

30 <220>
 <223> H N-terminal

 <220>
 <223> OH C-terminal

	Ile	Gly	Leu	His	Asn	Pro	Ser	His	Gly	Thr	Leu	Pro	Ala	Gly	Glu
	1				5					10					15

35 =

REIVINDICACIONES

1. Un péptido o análogo del mismo, que comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en:

Ac-IGLHDPSHGTLPAGS (SEQ ID NO:12);
 IGLHDPSHGTLPAGS (SEQ ID NO:7);
 IGLHDPSHGTLPAG (SEQ ID NO:73);
 IGLHDPSHGTLPAGSK (SEQ ID NO:9);
 IGLHDPSHGTLP(Aib)GS (SEQ ID NO:10);
 IGLHDPSHGTLP(N-methyl-L-Ala)GS (SEQ ID NO:11);
 (D-Ile)GLHDPSHGTLPAGS (SEQ ID NO:13);
 (L-NorVal)GLHDPSHGTLPAGS (SEQ ID NO:14);
 (L-NorLeu)GLHDPSHGTLPAGS (SEQ ID NO:15);
 IGLHDPSHGTLPAG-NH2 (SEQ ID NO:28);
 Ac-IGLHDPSHGTLPAGS-NH2 (SEQ ID NO:29);
 Ac-IGLHDPSHGTLPAG-NH2 (SEQ ID NO:30);
 IGLHDPSHGTLPAGS-NH2 (SEQ ID NO:41);
 IGLHDPSHGTLPAGSC (SEQ ID NO:42);
 Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC (SEQ ID NO:43);
 IGLHDPSHGTLPAGSC-NH2 (SEQ ID NO:44);
 Ac-IGLHDPSHGTLPAGSC-NH2 (SEQ ID NO:45);
 IGLHDPSHGTLPAGC (SEQ ID NO:46);
 Ac-IGLHDPSHGTLPAGC (SEQ ID NO:47);
 IGLHDPSHGTLPAGC-NH2 (SEQ ID NO:48);
 Ac-IGLHDPSHGTLPAGC-NH2 (SEQ ID NO:49);
 IGLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:50);
 IGLHDPTQGTEP(Aib)GE (SEQ ID NO:51);
 Ac-IGLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:52); y
 (D-Ile)GLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:53).

5

2. El péptido o análogo del mismo según la reivindicación 1, en donde el péptido o análogo del mismo consiste en una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en:

Ac-IGLHDP SHGTL P A G S (SEQ ID NO:12);
 IGLHDP SHGTL P A G S (SEQ ID NO:7);
 IGLHDP SHGTL P A G (SEQ ID NO:73);
 IGLHDP SHGTL P A G S K (SEQ ID NO:9);
 IGLHDP SHGTL P (Aib) G S (SEQ ID NO:10);
 IGLHDP SHGTL P (N-methyl-L-Ala) G S (SEQ ID NO:11);
 (D-Ile)GLHDP SHGTL P A G S (SEQ ID NO:13);
 (L-NorVal)GLHDP SHGTL P A G S (SEQ ID NO:14);
 (L-NorLeu)GLHDP SHGTL P A G S (SEQ ID NO:15);
 IGLHDP SHGTL P A G -NH₂ (SEQ ID NO:28);
 Ac-IGLHDP SHGTL P A G S -NH₂ (SEQ ID NO:29);
 Ac-IGLHDP SHGTL P A G -NH₂ (SEQ ID NO:30);
 IGLHDP SHGT LP A G S -NH₂ (SEQ ID NO:41);
 IGLHDP SHGTL P A G S C (SEQ ID NO:42);
 Ac-IGLHDP SHGTL P A G S C (SEQ ID NO:43);
 IGLHDP SHGTL P A G S C -NH₂ (SEQ ID NO:44);
 Ac-IGLHDP SHGTL P A G S C -NH₂ (SEQ ID NO:45);
 IGLHDP SHGTL P A G C (SEQ ID NO:46);
 Ac-IGLHDP SHGTL P A G C (SEQ ID NO:47);
 IGLHDP SHGTL P A G C -NH₂ (SEQ ID NO:48);
 Ac-IGLHDP SHGTL P A G C -NH₂ (SEQ ID NO:49);
 IGLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:50);
 IGLHDPTQGTEP(Aib)GE (SEQ ID NO:51);
 Ac-IGLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:52); y
 (D-Ile)GLHDPTQGTEPAGE (SEQ ID NO:53).

3. El péptido o análogo del mismo según las reivindicaciones 1 o 2, en donde el péptido o el análogo del mismo comprende una modificación, y en donde la modificación se elige entre un término N acetilado, un término C amidado, un aminoácido D, una modificación de ácido graso, una esterificación, o una combinación de las mismas.

5 4. El péptido o análogo del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el péptido o análogo del mismo tiene una longitud de 20 aminoácidos o menos.

5. Una composición que comprende el péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

10 6. La composición según la reivindicación 5, en donde dicha composición comprende además un vehícul aceptable farmacéuticamente.

7. El péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición según la reivindicación 5 o 6 para su uso en un método para:

- (i) tratar una alteración de una función pancreática o mejorar un signo o síntoma asociado con una función pancreática alterada;
- 15 (ii) tratar una enfermedad metabólica o mejorar un signo o síntoma asociado con una enfermedad metabólica;
- (iii) estimular el crecimiento de las células insulares pancreáticas;
- (iv) producir una población de células insulares pancreáticas;
- (v) aumentar el número de células insulares pancreáticas en un sujeto;
- (vi) promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa;
- 20 (vii) promover la regeneración hepática;
- (viii) inhibir la inflamación; o
- (ix) tratar a un paciente humano con una pancreatectomía parcial.

8. El péptido o análogo del mismo o la composición para el uso según la reivindicación 7, en donde dicha función pancreática alterada es diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA),

alteración de la glucosa en ayunas, alteración de la tolerancia a la glucosa, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, o alteración del nivel de insulina en ayunas, o una combinación de las mismas; o en donde dicha enfermedad metabólica es diabetes, pre-diabetes o síndrome metabólico.

- 5 9. El péptido o análogo del mismo o la composición para el uso según la reivindicación 7 o 8, en donde el método para mejorar un signo o síntoma asociado con la alteración de la función pancreática comprende además administrar un fármaco antidiabético.
- 10 10. El péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición según la reivindicación 5 o 6, para uso en un método para tratar o reducir una afección en un sujeto diabético, en donde la afección se selecciona entre el grupo consistente en alteración de la tolerancia a la glucosa, aumento de la glucosa en sangre, aumento de la glucosa en sangre en ayunas, aumento de la glucosa post-prandial en sangre, deficiencia de insulina, hiperinsulinemia en ayunas, resistencia a la insulina, alteración de los niveles de insulina en ayunas, hemoglobina glicosilada (HbA1c), péptido C estimulado por arginina (AUC), o una combinación de las mismas.
- 15 11. Un método para estimular el crecimiento de células de los islotes pancreáticos *in vitro*, en donde el método comprende poner en contacto una célula insular pancreática con un péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, con lo que se estimula la proliferación de las células de los islotes pancreáticos.
- 20 12. Un método para producir una población de células de los islotes pancreáticos *in vitro*, en donde el método comprende poner en contacto una o más células insulares pancreáticas con un péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, con lo que se estimula la proliferación de la célula o las células insulares pancreáticas y se produce una población de células insulares pancreáticas.
- 25 13. El método según la reivindicación 12, en donde la célula o las células insulares pancreáticas se obtienen de un sujeto.
14. Un método para promover la neuroprotección o la regeneración nerviosa *in vitro*, que comprende poner en contacto una célula nerviosa con un péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
15. Un método para promover la regeneración hepática *in vitro*, que comprende poner en contacto una célula hepática con un péptido o análogo del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

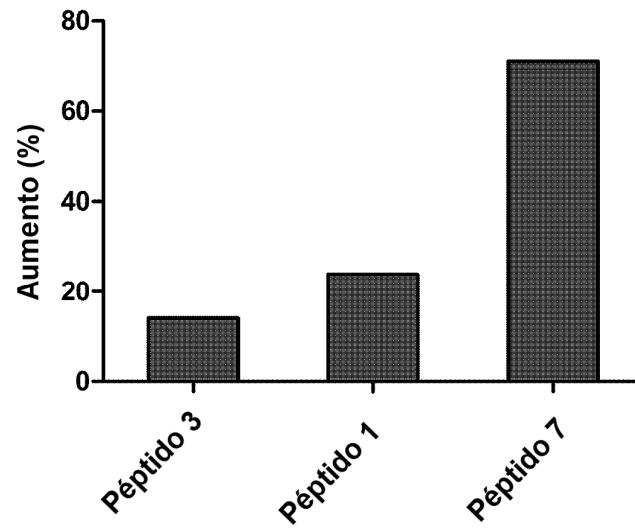


FIGURA 1

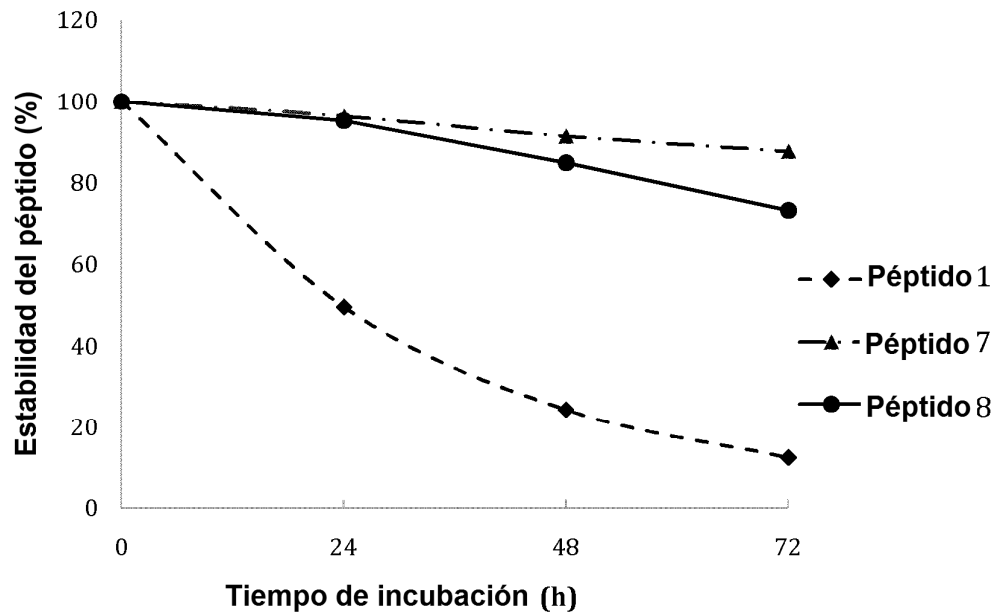


FIGURA 2

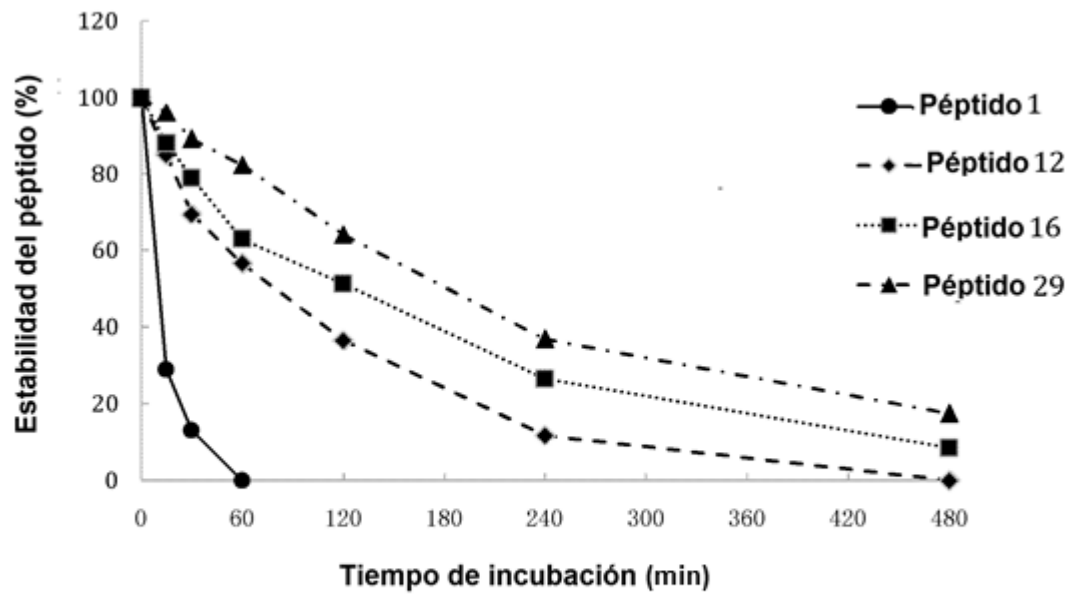


FIGURA 3

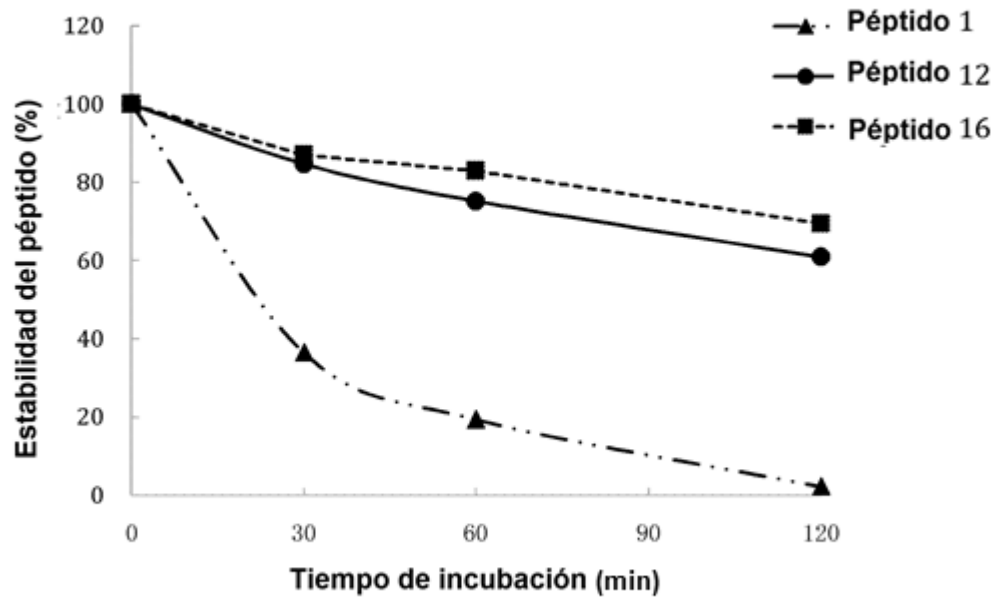


FIGURA 4

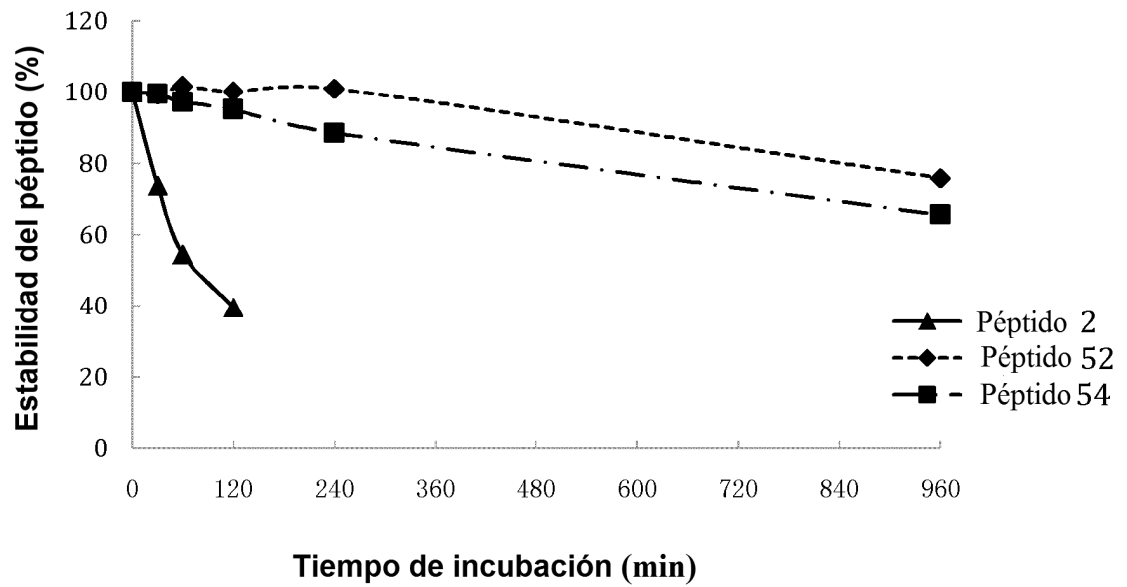


FIGURA 5

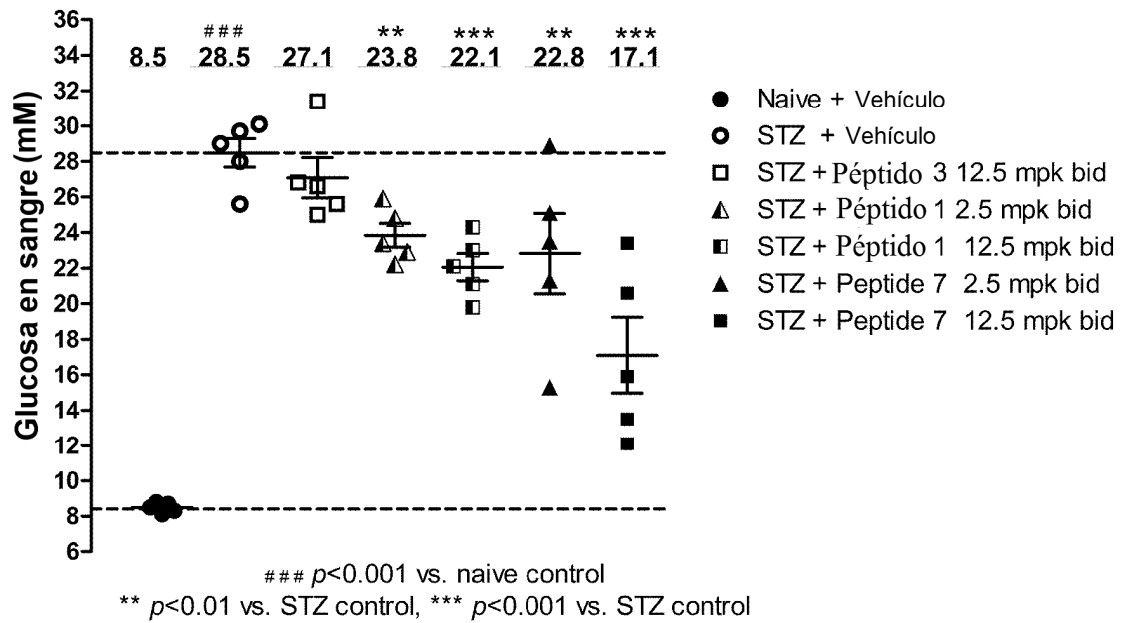


FIGURA 6A

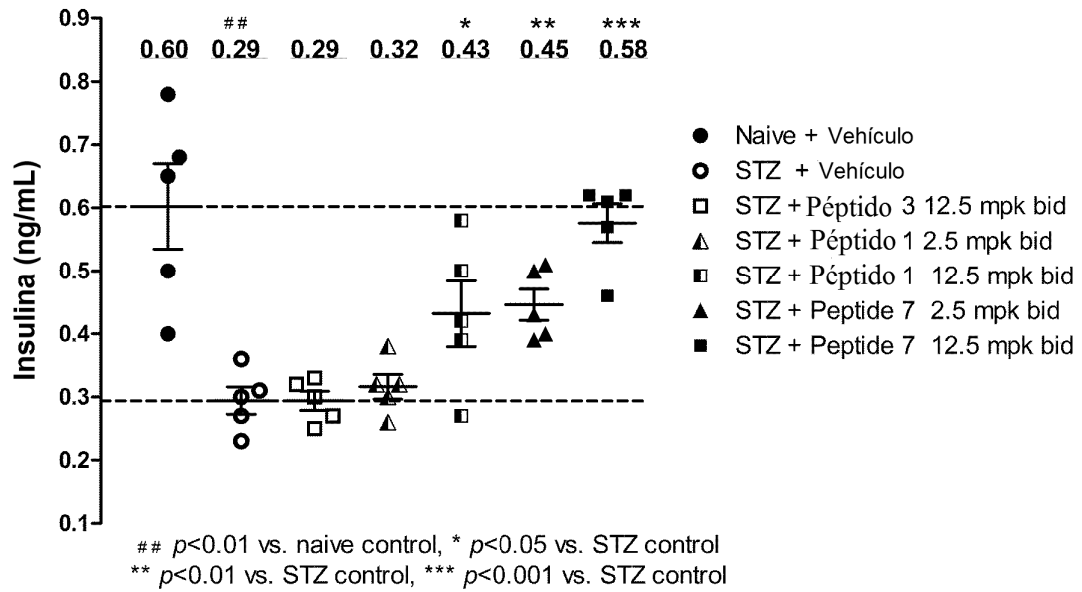


FIGURA 6B

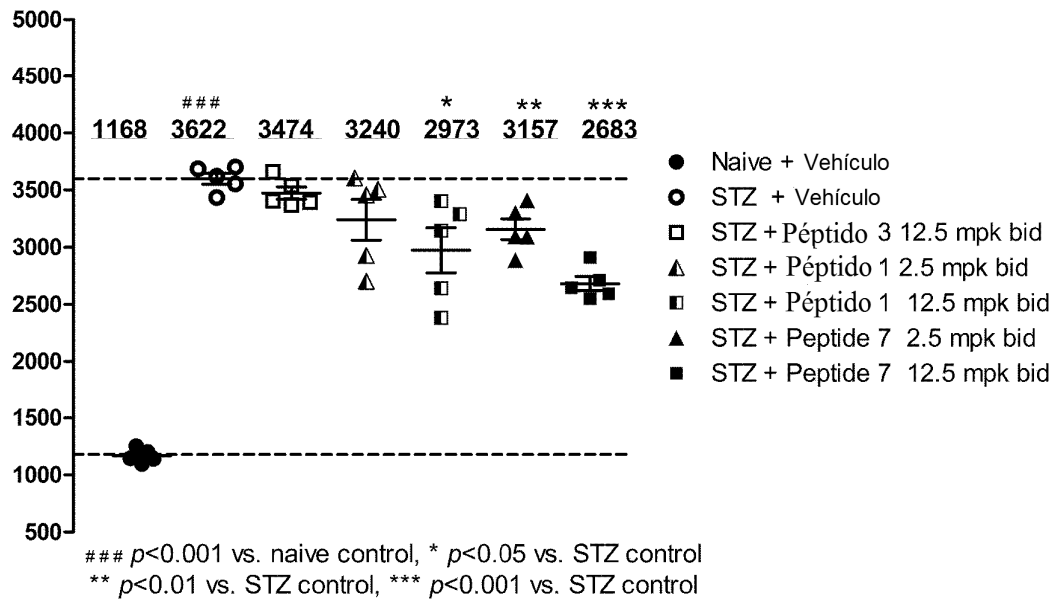


FIGURA 6C

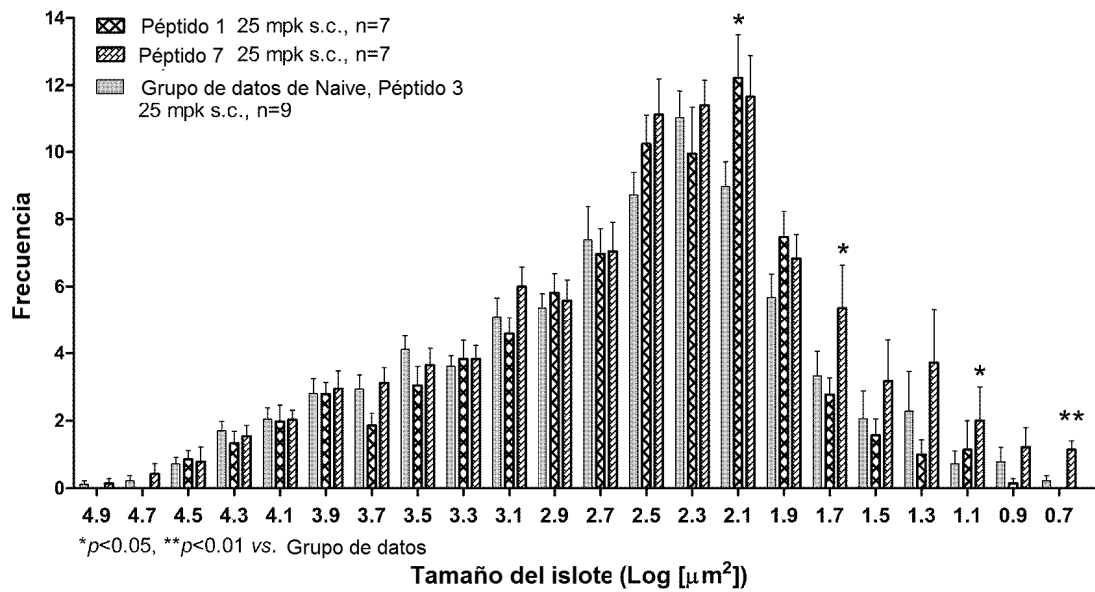


FIGURA 7

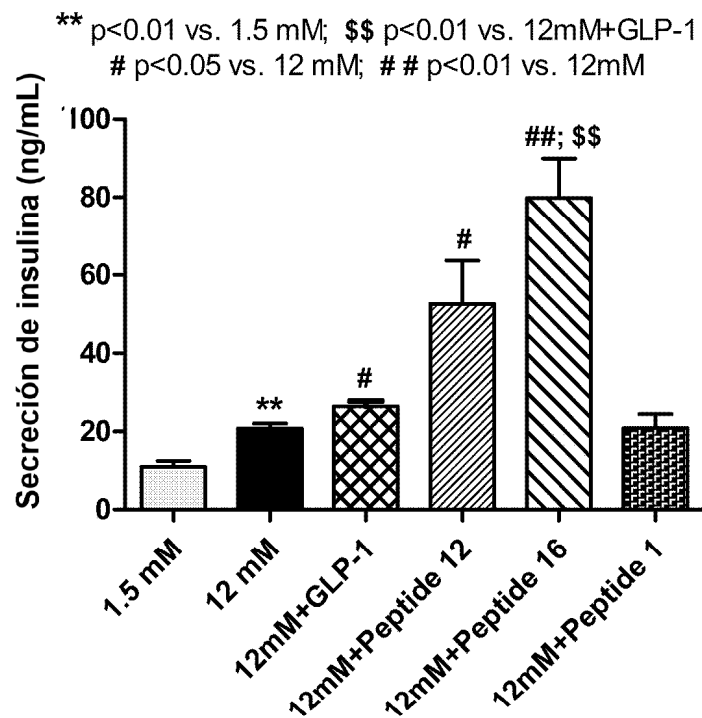


FIGURA 8

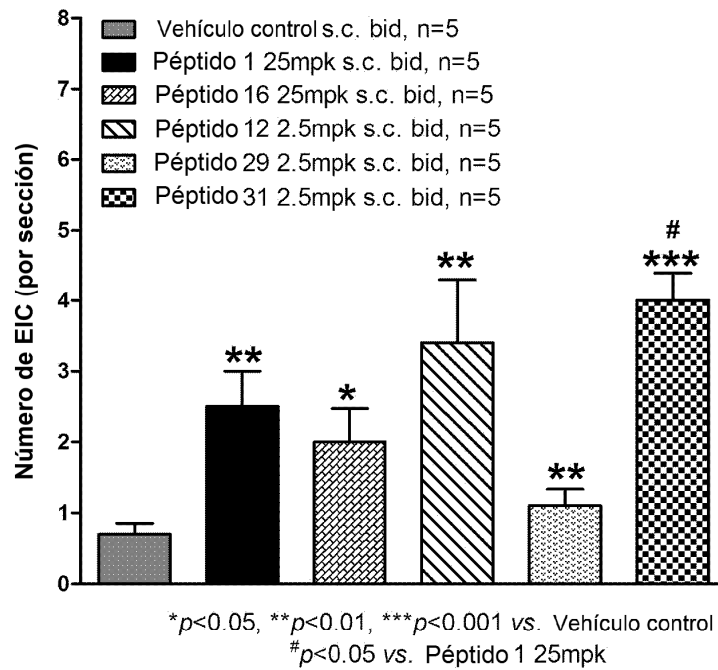


FIGURA 9A

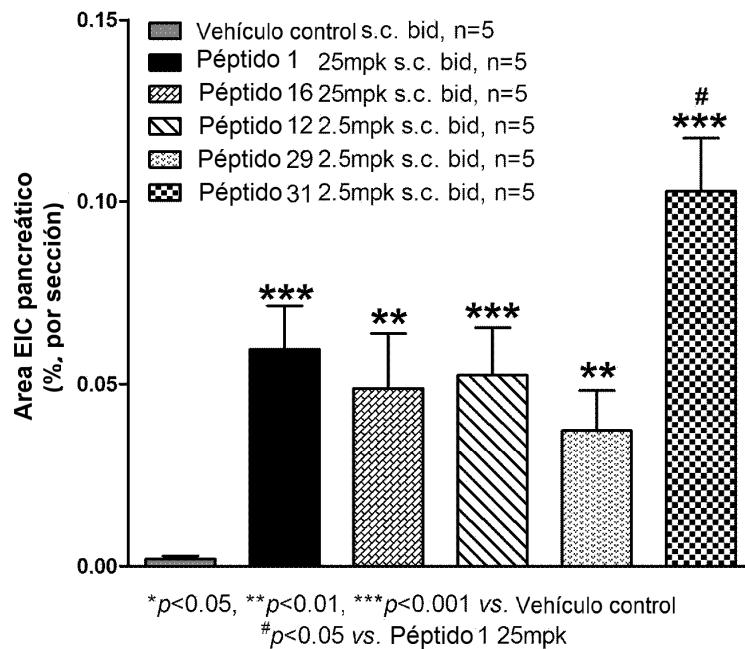


FIGURA 9B

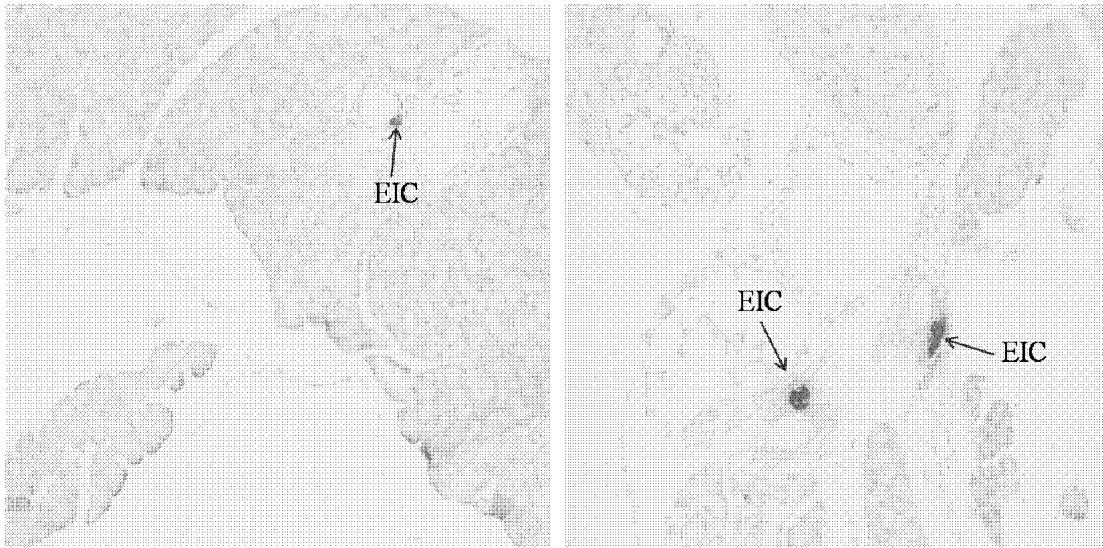


FIGURA 9C

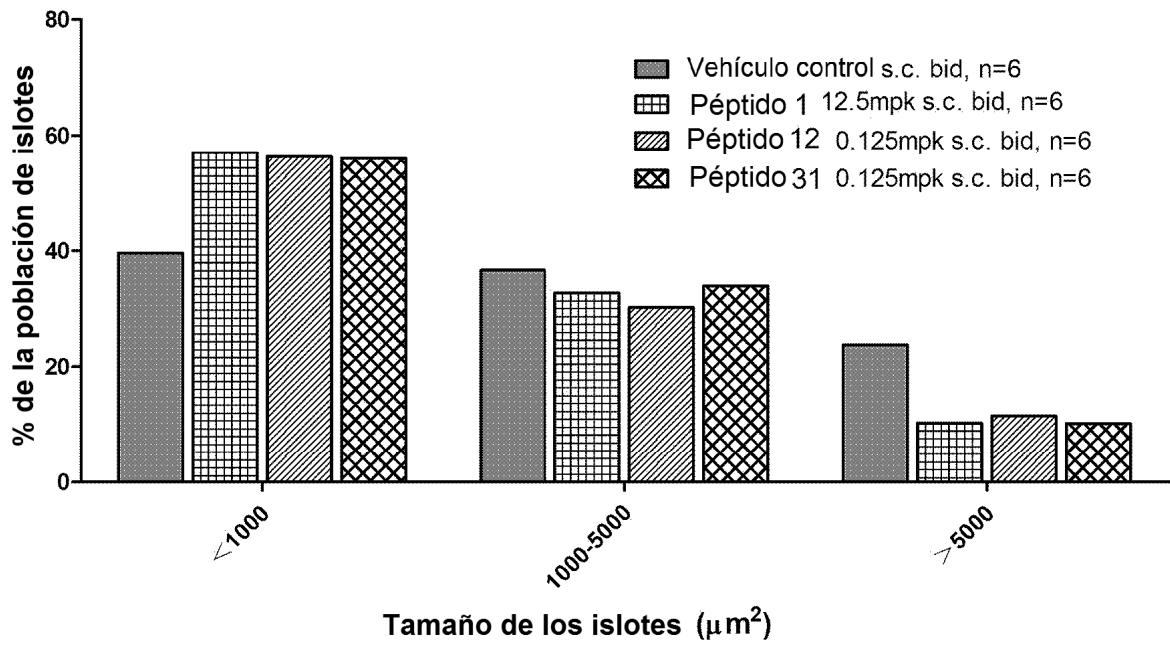


FIGURA 10

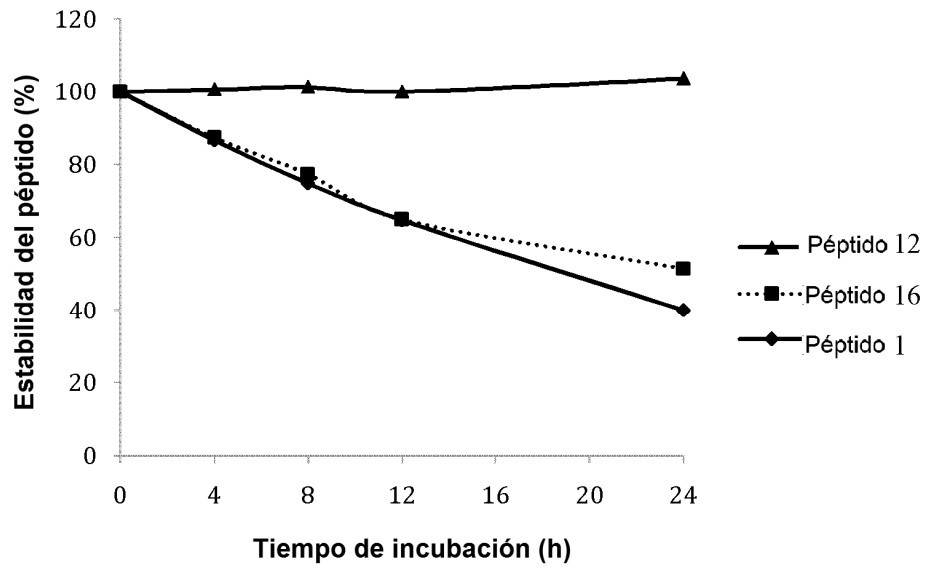


FIGURA 11

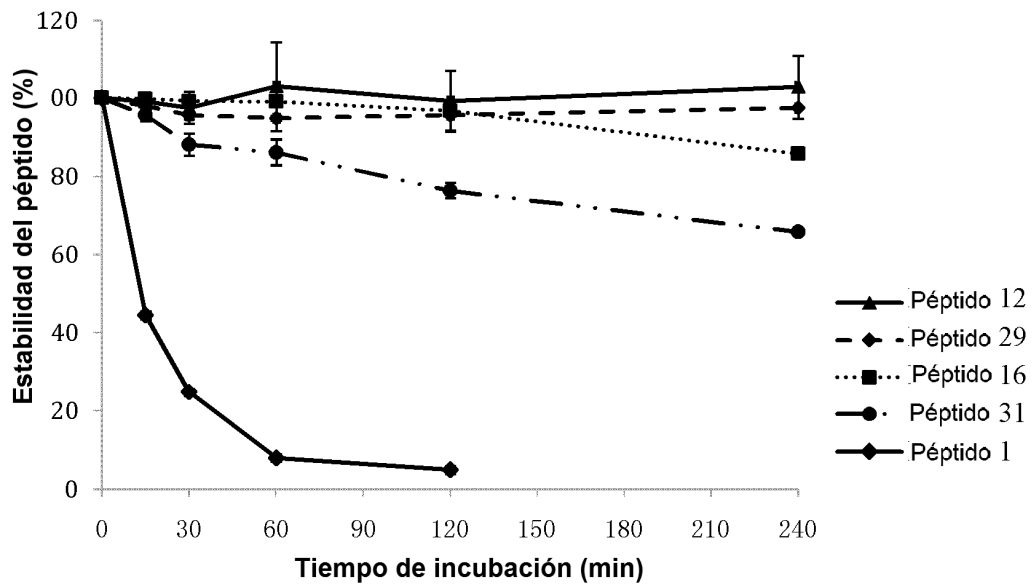


FIGURA 12

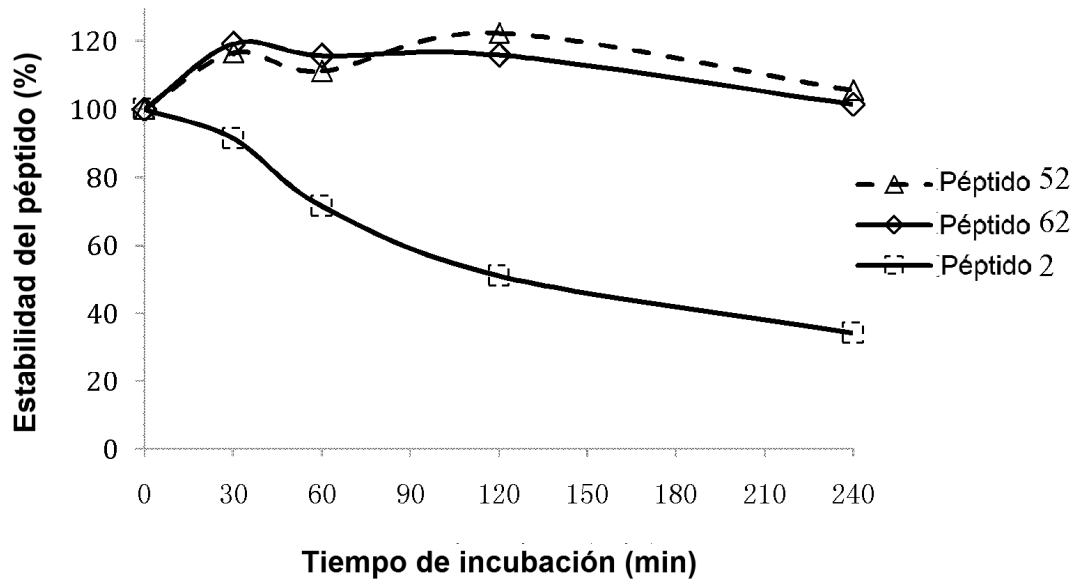


FIGURA 13

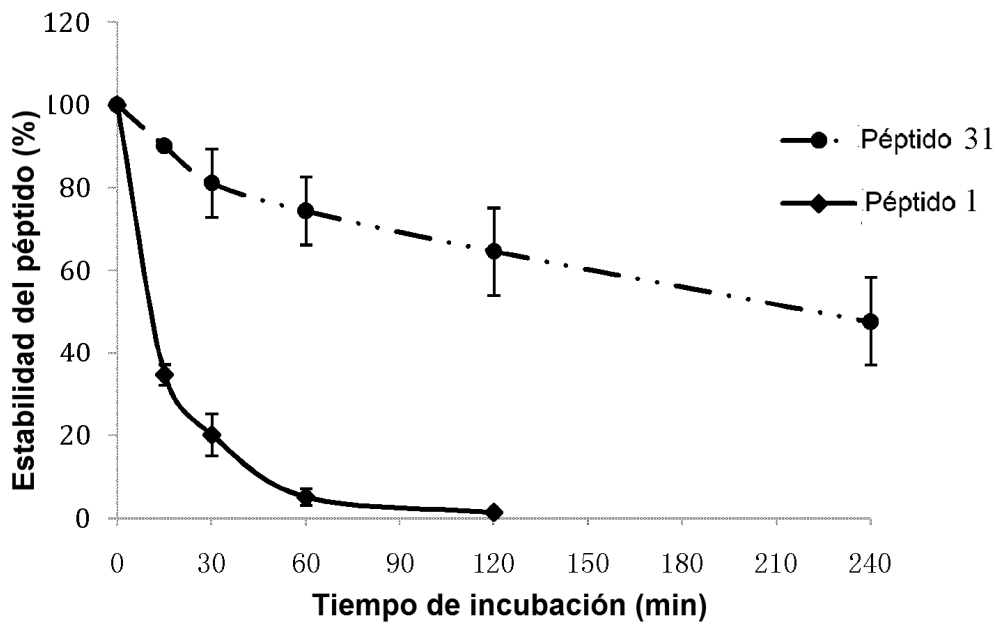


FIGURA 14

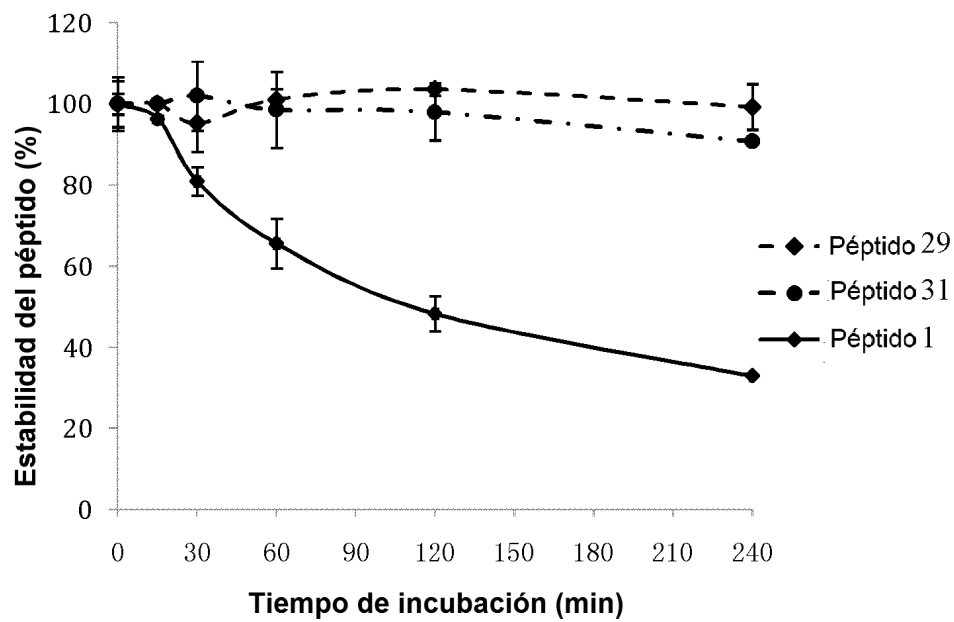


FIGURA 15

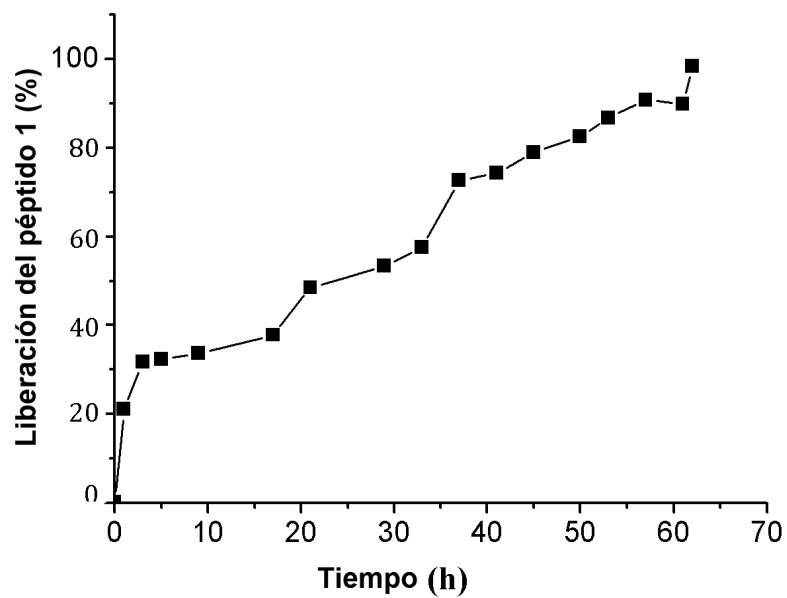


FIGURA 16

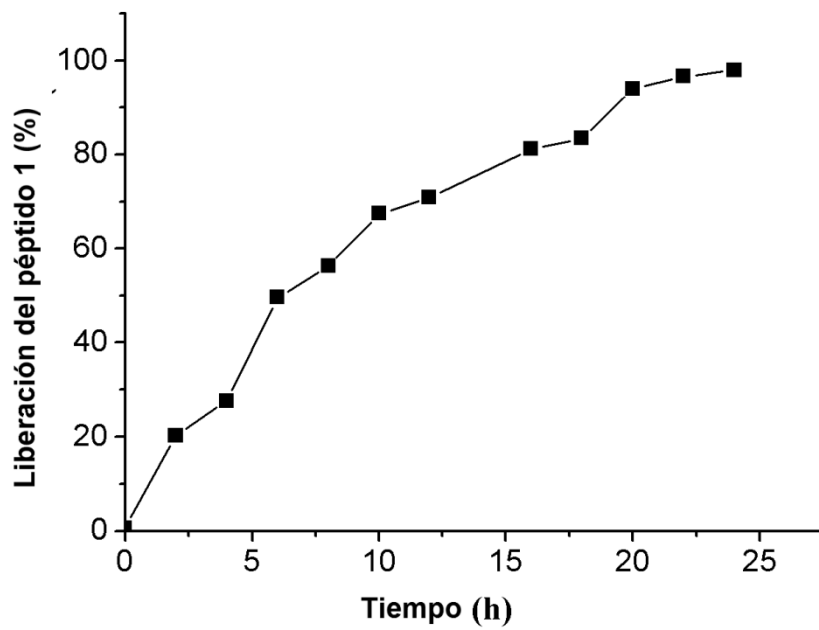


FIGURA 17

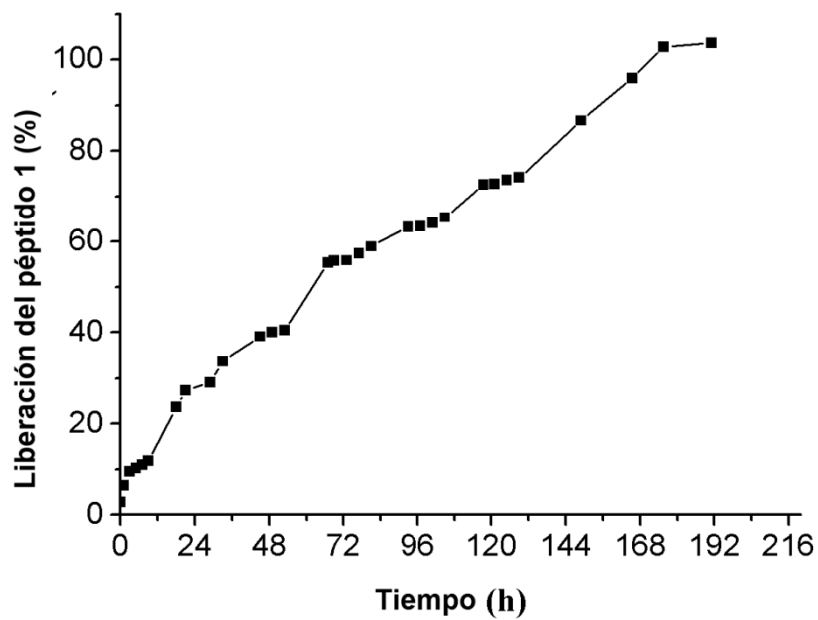


FIGURA 18