(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 732 316**

(51) Int. CI.:

A61K 38/05 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.02.2015 PCT/FR2015/050397**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **27.08.2015 WO15124867**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2015 E 15709276 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019 EP 3107556**

(54) Título: **Composiciones para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la alfa-glucosidasa**

(30) Prioridad:

18.02.2014 FR 1451280

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.11.2019

(73) Titular/es:

UNIVERSITE DE LA ROCHELLE (50.0%)
23 Avenue Albert Einstein, BP 33060
17031 La Rochelle, FR y
UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE (50.0%)

(72) Inventor/es:

MAUGARD, THIERRY;
BORDENAVE-JUCHEREAU, STÉPHANIE;
PIOT, JEAN-MARIE;
BEN-HENDA, YESMINE;
SIRVENT, PASCAL y
PELTIER, SÉBASTIEN

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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 para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la alfa-glucosidasa

La presente descripción se refiere a la utilización de composiciones para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa.

La presente invención se refiere a la utilización de composiciones para la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2.

La diabetes de tipo 2 es la forma más frecuente de diabetes. Se trata de una enfermedad metabólica crónica, progresiva, caracterizada por una hiperglucemia crónica, es decir, una concentración de azúcar en la sangre (glucemia) anómalamente elevada. Aunque su principal causa constituya la resistencia a la insulina y su secreción inadecuada en respuesta a un estado metabólico dado, otros factores pueden contribuir a un estado de hiperglucemia crónica, como por ejemplo, el sedentarismo.

La diabetes de tipo 2 constituye un problema importante de sanidad pública. En la mayoría de los países industrializados, la prevalencia de los casos conocidos de diabetes se sitúa entre el 6 y el 7% para las personas del margen de edad comprendido entre 45 a 64 años, y aumenta progresivamente hasta más del 20% para las personas de 80 años y más.

Ya se conocen diferentes clases de productos para tratar y/o prevenir la diabetes de tipo 2. Se han propuesto sobre todo los inhibidores enzimáticos, en concreto inhibidores de la dipeptidilpeptidasa IV o de la α-glucosidasa.

Aunque tanto la dipeptidilpeptidasa IV como la α-glucosidasa se encarguen de disminuir la glucemia posprandial, estas dos enzimas tienen mecanismos de acción diferentes que no están relacionados. No resulta nada obvio que un inhibidor de la α-glucosidasa inhiba la dipeptidilpeptidasa IV, ni a la inversa.

De hecho, la dipeptidilpeptidasa IV (DPP-IV) es una glucoproteína transmembranaria multifuncional que se expresa en la mayoría de los tejidos, en concreto en los implicados en la degradación de los péptidos (sobre todo el riñón, el tubo digestivo, el hígado y las vías biliares, el útero, la próstata y la piel). Esta glucoproteína posee tres propiedades biológicas: se fija a la adenosina desaminasa (ADA), contribuye a la unión de las células a la matriz extracelular y es una peptidasa.

En calidad de peptidasa, la dipeptidilpeptidasa IV escinde sobre todo hormonas, tales como el péptido 1 de tipo glucagón (GLP-1). El GLP1 es una incretina, a saber, una hormona intestinal que secretan las células L del íleon en respuesta a una comida. Una de sus funciones es la de favorecer la secreción de insulina para disminuir la glucemia posprandial. Sin embargo, el GLP-1 se degrada con rapidez en el plasma por acción de la DPP-IV y presenta, así pues, una breve semivida de aproximadamente 1 o 2 min.

La inhibición de la dipeptidilpeptidasa IV permite aumentar la semivida en circulación del GLP-1, que está de esta forma activo durante más tiempo, lo que se traduce en una secreción prolongada de insulina para disminuir la glucemia posprandial.

Así pues, se han propuesto inhibidores de la dipeptidilpeptidasa IV, sobre todo los péptidos que surgen de hidrolizados de proteínas tales como los que se describen en la solicitud de patente internacional WO 2006/068480.

La enzima α-glucosidasa se puede subdividir en cuatro enzimas que intervienen en el metabolismo de la glucosa (la maltasa, la sacarosa, la glucoamilasa y la isomaltasa). Todas estas enzimas se sitúan en la superficie de las vellosidades del intestino delgado y transforman los polisacáridos complejos en monosacáridos reabsorbibles (la glucosa).

De hecho, los polisacáridos absorbidos son degradados por la amilasa salivar y la pancreática en disacáridos (sacarosa, lactosa o maltosa) y, a continuación, en monosacáridos absorbibles por las α-glucosidasas o las β-glucosidasas (lactasa e invertasa).

La maltasa y la isomaltasa catalizan la hidrólisis de la maltosa y de las dextrinas en glucosa.

La sacarasa escinde la sacarosa en una molécula de fructosa y una de glucosa.

La glucoamilasa cataliza la hidrólisis de la maltotriosa y de las dextrinas en glucosa.

La lactasa favorece la disociación de la lactosa en glucosa y galactosa.

La invertasa es una β-fructofuranosidasa que pertenece a la familia de las sacarasas y, como tal, hidroliza la sacarosa.

Entre los inhibidores conocidos de la α-glucosidasa, existen péptidos bioactivos, tales como los péptidos Ile-Ile-Ser-Ile-Gly; Ile-Ile-Ser-Ile-Gly-Arg; Val-Phe-Ile-Lys-Ala-Ala; Val-Phe-Ile-Lys-Ala-Ala-Ala y Val-Phe-Ile-Lys-Ala, tales como los descritos en la solicitud de patente japonesa JPH 1029 2000, o bien existen compuestos químicos, tales como la

acarbosa (comercializada en Francia por Bayer AG con el nombre de Glucor, y Glucobay® en Europa) y el miglitol (comercializado con el nombre de Diastabol® en Europa).

Tanto la acarbosa como el miglitol inhiben la α-glucosidasa de manera competitiva y reversible, y, sobre todo, la sacarasa (su CI_{50} para la sacarasa es, respectivamente, de 0,5 µM y de 0,19 µM). Inhiben la última etapa de la digestión de los azúcares que, al no poder ser absorbidos, continúan su periplo en el intestino y sufren la fermentación colibacteriana en ácidos grasos volátiles, o se eliminan en las heces. Por lo tanto, permiten enlentecer la digestión de los azúcares y disminuir su absorción, lo que supone una disminución de la glucemia posprandial a corto plazo y la de la glucohemoglobina a medio plazo.

Sin embargo, estos dos compuestos presentan efectos secundarios debidos al estancamiento y a la fermentación de los azúcares no digeridos en el intestino, sobre todo problemas digestivos, tales como dolor abdominal, meteorismo, flatulencia y diarrea. Además, estos compuestos no permiten bajar la glucohemoglobina más que de un 0,5 a un 1% de media, lo que se traduce en una disminución de la glucemia plasmática media de 0,17 a 0,35 g/l.

En comparación, los inhibidores de la α-amilasa (una enzima responsable de la hidrólisis de los glúcidos de cadena larga) utilizados como nutracéuticos permiten que la glucohemoglobina disminuya de manera más importante. Así pues, el consumo de MealShape®, un extracto de canela comercializado por la sociedad DIALPHA, en la dosis de 500 mg, dos tomas, antes de consumir una comida rica en glúcidos (pan blanco), induce una disminución de la glucemia posprandial de aproximadamente el 20% (medida en 1 h del área bajo la curva, en comparación con un placebo en voluntarios sanos; datos de DIALPHA hechos públicos, pero no publicados en ninguna revista científica con comité de lectura a fecha de hoy). MealShape® ha sido el objeto la solicitud de patente internacional WO 2012/085266 A2. De igual modo, la administración de 3 000 mg de StarchLite® en forma de polvo, en condiciones similares, parece inducir una disminución del índice glucémico de determinados alimentos aproximadamente el 30% (Udani J. K. et al. *Nutr J*. 2009, 8: 52). StarchLite® es un extracto de judía blanca (*Phaseolus vulgaris*) comercializado por la sociedad Ingredia Nutritional.

Sin embargo, MealShape® y StarchLite® solo se utilizan en el ámbito nutracéutico o alimentario, y no en el ámbito terapéutico. Además, se describe en la bibliografía que el consumo de dosis importantes de canela o de extractos de canela puede ser tóxico (la dosis letal media (DL_{50}) es de 0,196 g/kg en el ratón).

Por otra parte, los péptidos bioactivos inhibidores de enzimas se utilizan del mismo modo en un ámbito diferente de la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2. En cuanto a este tema, los péptidos VAP (un tripéptido Valina-Alanina-Prolina) y AP (un dipéptido Alanina-Prolina) se conocen sobre todo por su actividad inhibidora de la enzima conversora de la angiotensina (véanse, por ejemplo, los artículos de Maruyama et al., *Agric. Biol. Chem*., 51 (6), 1581-1586, 1987, y de Cheung et al., *J. Biol. Chem*. 1980, 255: 401-407, o la solicitud de patente internacional WO 2006/084560).

Así pues, existe una necesidad real de dar a conocer moléculas hipoglucemiantes para el tratamiento y/o la prevención de la diabetes de tipo 2 que presenten menos efectos secundarios que los tratamientos existentes.

También existe una necesidad real de dar a conocer moléculas hipoglucemiantes para el tratamiento y/o la prevención de la diabetes de tipo 2 que sean más eficaces que las de la técnica anterior.

También existe una necesidad real de dar a conocer moléculas hipoglucemiantes que se puedan utilizar para el tratamiento y/o la prevención de la diabetes de tipo 2, al mismo tiempo en el ámbito terapéutico, así como en el ámbito alimentario y/o nutracéutico.

La presente invención contempla así dar a conocer moléculas hipoglucemiantes más eficaces y más naturales que las de la técnica anterior.

La presente invención contempla también dar a conocer moléculas hipoglucemiantes que se puedan utilizar a la vez en el ámbito terapéutico, pero igualmente en el ámbito alimentario y/o nutracéutico. La presente invención está definida en las reivindicaciones.

Así pues, la presente invención tiene por objeto las composiciones que comprenden péptidos inhibidores de la α-glucosidasa para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa, sobre todo la diabetes de tipo 2.

La presente invención tiene igualmente por objeto una composición farmacéutica que comprende tales péptidos.

La presente descripción tiene igualmente por objeto la utilización de tales péptidos para la preparación de una composición nutracéutica o de un complemento alimentario.

La presente invención tiene igualmente por objeto una composición nutracéutica o una composición alimentaria que comprende tales péptidos.

Por último, la presente descripción tiene por objeto las composiciones que comprenden hidrolizados de al menos una proteína que presente en su secuencia de aminoácidos motivos aminoacídicos que inhiban la α-glucosidasa para la

prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa, sobre todo la diabetes de tipo 2.

La presente descripción tiene igualmente por objeto una composición farmacéutica que comprende tales hidrolizados.

La presente descripción tiene igualmente por objeto la utilización de tales hidrolizados para la preparación de una composición nutracéutica o de un complemento alimentario.

La presente descripción tiene igualmente por objeto una composición nutracéutica o una composición alimentaria que comprende tales hidrolizados.

En un primer aspecto, la presente descripción se refiere así a una composición que comprende o que está constituida al menos por un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere así pues a una composición que comprende o que está constituida por al menos un péptido AP para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2.

La expresión «X representa el conjunto vacío o una valina» significa que XAP puede ser un tripéptido VAP o un dipéptido AP.

El tripéptido VAP está constituido por el encadenamiento de tres aminoácidos en el orden siguiente: valina, a continuación, alanina y, luego, prolina. Los aminoácidos están unidos entre sí por enlaces peptídicos. La prolina se encuentra en la posición carboxiterminal.

El dipéptido AP está constituido por el encadenamiento de dos aminoácidos en el orden siguiente: alanina y, luego, prolina. Los aminoácidos están unidos entre sí por enlaces peptídicos. La prolina se encuentra en la posición carboxiterminal.

Dichos péptidos VAP y AP puede actuar sobre la glucemia posprandial y pueden permitir sobre todo su disminución.

En dichos péptidos VAP y AP, los aminoácidos valina, alanina y prolina pueden ser levógiros o bien dextrógiros.

Los restos aminoacídicos sucesivos de los péptidos según la invención están todos preferiblemente constituidos por sus isómeros levógiros. No obstante, uno o varios de los restos aminoacídicos de dichos péptidos pueden estar igualmente en forma dextrógira. Ello da lugar a productos menos biodegradables.

En un aspecto particular y preferido de la invención, el péptido utilizado es el péptido AP.

En un aspecto particular de la invención, la α-glucosidasa es una maltasa o una sacarasa.

Así pues, los inventores han encontrado de manera sorprendente que los péptidos VAP o AP presentan una actividad inhibidora muy fuerte de la α-glucosidasa, en concreto de la maltasa, y presentan sobre todo una concentración inhibidora media de la α-glucosidasa, en concreto de la maltasa, de aproximadamente 600 veces y de aproximadamente 900 veces más débil con respecto a la de los dos inhibidores de referencia de la α-glucosidasa, a saber, la acarbosa y el miglitol.

En un aspecto en concreto, la presente descripción se refiere así pues a una composición que comprende o que está constituida al menos por un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, para ser utilizada como inhibidor de la α-glucosidasa.

De hecho, la invención se refiere igualmente a los péptidos XAP, en los que X representa el conjunto vacío o una valina, para su utilización como inhibidores de la α-glucosidasa.

La actividad inhibidora que tienen los péptidos VAP y AP se puede, por ejemplo, medir *in vitro* según el protocolo siguiente:

- Solubilizar los péptidos a analizar o la molécula de control (por ejemplo, en la especie de los péptidos VAP o AP y la acarbosa o el miglitol) en agua desionizada que contiene el 10% de DMSO (dimetilsulfóxido);

- Mezclar 20 µl de α-glucosidasa en el tampón de fosfato de sodio (pH 6,8) a 0,1 mol/l a una concentración final de 0,2 U/ml con 8 µl de la muestra de péptido o de acarbosa o de miglitol a diferentes concentraciones (de 0,01 a 50 mmol/l). La acarbosa o el miglitol, inhibidores sintéticos comerciales que se consideran inhibidores de cara a la α-glucosidasa, se utilizan aquí de controles positivos;

- Incubar a 37 °C durante 20 min;

- Añadir a la mezcla 20 µl del sustrato p-NPG (p-nitrofenilglucopiranósido) a 2,5 mM (preparado en el mismo tampón mencionado más arriba) para iniciar la reacción;

- Incubar durante 30 min a 37 °C;

- Parar la reacción con la adición de 80 µl de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) a 0,3 M;

- Medir la cantidad de producto formado (el p-nitrofenilo (p-NP) de color amarillo) por espectrofotometría (absorbancia a 410 nm en el lector de microplacas VersaMax™). Preferiblemente, el análisis se lleva a cabo en una microplaca de 96 pocillos y se realiza por triplicado.

- Calcular el porcentaje de inhibición según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = [1 - \frac{DO_{muestra_problema} - DO_{blanco_problema}}{DO_{control_problema} - DO_{blanco_control}}] \times 100$$

en la que:

- $DO_{muestra_problema}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por la mezcla «muestra + enzima + sustrato»
- $DO_{blanco_problema}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por la mezcla «muestra + tampón»
- $DO_{control_problema}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por la mezcla «tampón + enzima + sustrato»
- $DO_{blanco_control}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por el tampón.

La actividad inhibidora de los péptidos VAP y AP puede, por ejemplo, medirse *in vivo* según el protocolo siguiente: La actividad inhibidora de los péptidos AP y VAP y el efecto de los péptidos AP y VAP sobre la respuesta glucémica se pueden medir mediante una prueba oral de tolerancia a la sacarosa y a la maltosa *in vivo* en el ratón db/db.

Se utilizan ratones de 4 semanas de edad y cada ratón es su propio control.

Se realizan cinco pruebas orales de tolerancia a la sacarosa y/o la maltosa (4 g/kg) con cada ratón con un mínimo de 72 h de intervalo. El orden se determina de manera que se erradica una posible confusión generada por una modificación de la composición corporal de los ratones durante las 3 semanas de estudio.

Las 5 pruebas son las siguientes:

- Una prueba de control (que comprende una solución salina al 0,9%);
- Una prueba con el péptido AP (a una concentración de 500 mg/kg);
- Una prueba con el péptido VAP (a una concentración de 500 mg/kg);
- Una prueba con el péptido AP (a una concentración de 500 mg/kg) y con el péptido VAP (a una concentración de 500 mg/kg);
- Una prueba con acarbosa (a una concentración de 10 mg/kg). Esta última prueba con acarbosa es facultativa para determinar la actividad inhibidora de los péptidos AP y VAP.

La sacarosa o la maltosa y los productos problema se diluyen en una solución salina al 0,9%, y luego se administran directamente por vía gástrica.

Cinco minutos después de la administración por vía gástrica, se realiza una primera extracción de sangre en la cola para determinar la glucemia (t = 0); a continuación, se realizan otras 6 extracciones al cabo de 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min.

El criterio de evaluación principal es la medición del área bajo la curva glucémica de las 2 h que siguen a la administración de la sacarosa o de la maltosa (ABC, área bajo la curva, 0-120 min, en g*min/l).

La α-glucosidasa que se puede utilizar para los propósitos de los protocolos mencionados aquí arriba puede ser, por ejemplo, la α-glucosidasa recombinante de *Saccharomyces cerevisiae,* que es una maltasa.

El experto en la técnica podrá utilizar cualquier otro protocolo que juzgue equivalente o más adecuado.

En un aspecto de la descripción, las enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa son, por ejemplo, la diabetes de tipo 2, la mucoviscidosis (véase la solicitud de patente internacional WO2005046672 A2), la hepatitis C (véase la solicitud de patente internacional WO2006096769) y la adiposis (véase la patente europea EP0638317 B1).

En un aspecto más concreto de la invención, la enfermedad relacionada con la α-glucosidasa es la diabetes de tipo 2.

En un aspecto concreto de la invención, dichos péptidos se utilizan en los pacientes que presentan, o que corren el riesgo de presentar, una prediabetes, sobre todo una prediabetes de tipo 2. Dichos pacientes no sufren

obligatoriamente enfermedades cardiovasculares, sobre todo hipertensión arterial, cardiopatía o insuficiencia cardíaca crónica. De hecho, los pacientes que presentan una prediabetes, sobre todo una prediabetes de tipo 2, no padecen necesariamente una hipertensión arterial (HTA).

La prediabetes corresponde a un estado en el que el índice glucémico es más elevado de lo normal, sin estar suficientemente elevado para definir una diabetes. La prediabetes puede formar parte de un concepto médico denominado síndrome metabólico. La definición del síndrome metabólico hace intervenir diferentes datos, entre ellos la obesidad de tipo abdominal, una anomalía de los parámetros lipídicos, una hipertensión arterial, etc. El síndrome metabólico es por sí mismo un factor de riesgo de aparición de enfermedades cardiovasculares. Todas las personas que presentan una prediabetes no desarrollarán forzosamente una diabetes. Pero cuando se tiene un síndrome metabólico, este riesgo se multiplica por 10 con respecto a un sujeto sano.

La prediabetes se define por una glucemia en ayunas superior o igual a 1 g/l (sobre todo comprendida entre 1 g/l y 1,26 g/l, y esto es independiente de las normas del laboratorio), o una intolerancia a la glucosa.

Se diagnostica una diabetes cuando la glucemia en ayunas es igual o superior a 1,26 g/l, durante 2 extracciones sucesivas o cuando la glucemia es igual o superior a 2 g/l sin tener en cuenta el momento del día.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende al menos un péptido VAP y/o al menos un péptido AP. Esto significa que la composición según la presente invención comprende al menos un péptido VAP o al menos un péptido AP, o que dicha composición comprende al menos un péptido VAP y al menos un péptido AP.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende al menos un péptido AP o al menos un péptido AP y VAP.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida al menos por un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en asociación con al menos un péptido de tipo APX'.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende o está constituida al menos por un péptido AP en asociación con al menos un péptido de tipo APX'.

La expresión «péptido de tipo APX'» hace referencia a un péptido en el cual A es el aminoácido alanina, P es el aminoácido prolina y X' corresponde a un aminoácido o a un grupo de aminoácidos elegido entre los 20 aminoácidos distribuidos universalmente en los seres vivos (Alanina; Arginina; Asparagina; Aspartato o Ácido aspártico; Cisteína; Glutamato o Ácido glutámico; Glutamina; Glicina; Histidina; Isoleucina; Leucina; Lisina; Metionina; Fenilalanina; Prolina; Serina; Treonina; Triptófano; Tirosina; Valina). Los aminoácidos se unen entre sí por enlaces peptídicos.

En un aspecto en concreto de la invención, el péptido de tipo APX' se elige entre APFPE (SEQ ID n.º 1) o APFPEVF (SEQ ID n.º 2).

Así pues, en un aspecto en concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida al menos por un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en asociación con al menos un péptido APFPE y/o APFPEVF.

Así pues, en un aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende o está constituida al menos por un péptido AP en asociación con al menos un péptido APFPE y/o APFPEVF.

Así pues, en un aspecto concreto, la composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por al menos las asociaciones de los péptidos siguientes:

- AP + APFPE (SEQ ID n.º 1), o
- AP + APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o
- VAP + APFPE (SEQ ID n.º 1), o
- VAP + APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o
- AP + APFPE (SEQ ID n.º 1) + APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o
- VAP + APFPE (SEQ ID n.º 1) + APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o
- AP + VAP + APFPE (SEQ ID n.º 1) + APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o

- AP + VAP + APFPE (SEQ ID n.º 1), o

- AP + VAP + APFPEVF (SEQ ID n.º 2).

En otro aspecto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 40,0 mg/kg del péptido XAP.

En otro aspecto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 40,0 mg/kg del péptido AP.

En otro aspecto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido XAP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido XAP, y en un modo ventajoso de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

En otro aspecto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP, y en un modo ventajoso de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

Las dosis se han establecido para un paciente adulto de 75 kg.

La expresión «aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg» se debe entender como que puede cubrir valores un poco inferiores a 0,06 mg/kg, por ejemplo, 0,059 mg/kg, o bien algo poco superiores a 30,0 mg/kg, por ejemplo, 30,1 mg/kg, sobre todo para un paciente cuyo peso es diferente de 75 kg.

La expresión «de aproximadamente >30,0 mg/kg a aproximadamente 40,0 mg/kg» se debe entender como que puede cubrir los valores un poco superiores a 40,0 mg/kg, por ejemplo, 40,1 mg/kg, sobre todo para un paciente cuyo peso es diferente de 75 kg.

La expresión «de aproximadamente >30,0 mg/kg» significa que los valores son estrictamente superiores a 30,0 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg» significa también que la composición según la presente invención puede comprender todos los valores desde 0,06 mg/kg a 30,0 mg/kg, sobre todo de 0,06 mg/kg a 0,08 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,09 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,1 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,5 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 1,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 2,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 5,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 10,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 15,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 20,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 25,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 30,0 mg/kg; de 0,2 mg/kg a 0,4 mg/kg; de 0,2 a 0,5 mg/kg; de 0,6 mg/kg a 0,9 mg/kg; de 0,6 mg/kg a 1 mg/kg; de 2 mg/kg a 3 mg/kg o 4 mg/kg o 5 mg/kg o 6 mg/kg o 7 mg/kg u 8 mg/kg o 9 mg/kg o 10 mg/kg u 11 mg/kg o 12 mg/kg o 13 mg/kg o 14 mg/kg o 15 mg/kg o 16 mg/kg o 17 mg/kg o 18 mg/kg o 19 mg/kg o 20 mg/kg o 21 mg/kg o 22 mg/kg o 23 mg/kg o 24 mg/kg o 25 mg/kg o 26 mg/kg o 27 mg/kg o 28 mg/kg o 29 mg/kg o 30 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente >30,0 mg/kg a aproximadamente 40,0 mg/kg» significa también que la composición según la presente invención puede comprender todos los valores superiores a 30,0 mg/kg a aproximadamente 40,0 mg/kg, sobre todo 31 mg/kg, 32 mg/kg, 33 mg/kg, 34 mg/kg, 35 mg/kg, 36 mg/kg, 37 mg/kg, 38 mg/kg, 39 mg/kg y 40 mg/kg.

En un aspecto, la descripción se refiere así a una composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa, que comprende o que está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido VAP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido VAP, y/o que comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP, y/o que comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP, o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP.

En un aspecto, la invención se refiere así a una composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2, que comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP, y/o que comprende o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP.

En un aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg del péptido VAP, y/o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg del péptido AP, y/o dicha composición para ser

utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg de los péptidos VAP y AP.

En otro aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido VAP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido VAP, y/o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP, y/o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP.

En un aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido VAP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido VAP.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así, o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende así o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, o dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg de los péptidos VAP y AP.

Aún en otro aspecto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido VAP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, y dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg.

Aún en otro aspecto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido VAP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, y dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende también o está constituida por aproximadamente de 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido AP, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg.

Aún en otro aspecto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente

de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido VAP, y dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP.

Aún en otro aspecto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende también o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido VAP, y dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende también o está constituida por aproximadamente de >30,0 mg/kg a 40,0 mg/kg del péptido AP.

En otro aspecto en concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por 13,3 mg/kg del péptido XAP, sobre todo del péptido AP.

En otro aspecto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa está en forma unitaria y comprende o está constituida por una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 5 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa está en forma unitaria y comprende o está constituida por una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 5 mg a 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg, y/o comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg, y/o comprende o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

La expresión «de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg» significa que las dosis pueden ser un poco inferiores a 5 mg, por ejemplo 4,9 mg, y un poco superiores a 2 250 mg, por ejemplo, 2 250,1 mg. Esta expresión significa también que están comprendidos todos los valores de 5 mg a 2 250 mg, por ejemplo, de 5 mg a 10 mg; de 10 mg a 15 mg; de 15 mg a 20 mg; de 20 mg a 25 mg; de 25 mg a 30 mg; de 30 mg a 35 mg; de 35 mg a 40 mg; de 45 mg a 50 mg; de 50 mg a 55 mg; de 55 mg a 60 mg; de 60 mg a 65 mg; de 65 mg a 70 mg; de 70 mg a 75 mg; de 75 mg a 80 mg; de 80 mg a 85 mg; de 85 mg a 90 mg o de 95 mg a 100 mg, pero también de 5 mg a 100 mg; a 150 mg; a 200 mg; a 250 mg; a 300 mg; a 350 mg; a 400 mg; a 450 mg; a 500 mg; a 550 mg; a 600 mg; a 650 mg; a 700 mg; a 750 mg; a 800 mg; a 850 mg; a 900 mg; a 950 mg; a 1 000 mg; a 1 050 mg; a 1 100 mg; a 1 150 mg; a 1 200 mg; a 1 250 mg; a 1 300 mg; a 1 350 mg; a 1 400 mg; a 1 450 mg; a 1 500 mg; a 1 550 mg; a 1 600 mg; a 1 650 mg; a 1 700 mg; a 1 750 mg; a 1 800 mg; a 1 850 mg; a 1 900 mg; a 1 950 mg; a 2 000 mg; a 2 050 mg; a 2 100 mg; a 2 150 mg; a 2 200 mg.

En un aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por una cantidad de 1 000 mg del péptido XAP, sobre todo del péptido AP.

La expresión «de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg» significa que las dosis pueden ser un poco superiores a 3 000 mg, por ejemplo 3 000,1 mg. Esta expresión significa también que todos los valores de >2 250 mg a 3 000 mg están incluidos, sobre todo 2 260 mg; 2 270 mg; 2 280 mg y 2 290 mg.

La expresión «de aproximadamente >2 250 mg» significa que los valores son estrictamente superiores a 2 250 mg.

En otro aspecto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, y/o comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, y/o comprende o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg.

La expresión «de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg» debe ser comprendida como puede indicar uno de los valores siguientes: 5,0; 5,1; 5,2; 5,3; 5,4; 5,5; 5,6; 5,7; 5,8; 5,9; 6,0; 6,1; 6,2; 6,3; 6,4; 6,5; 6,6; 6,7; 6,8; 6,9; 7,0; 7,1; 7,2; 7,3 o 7,4.

Aún en otro aspecto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida también por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg, y/o comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg, y/o comprende o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg o de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En un aspecto en concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg o una cantidad del péptido VAP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg o una cantidad del péptido AP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende así o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg o una cantidad del péptido AP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende así o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende así o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg, y comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende así o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg, y comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 2 250 mg, sobre todo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o sobre todo de aproximadamente 7,5 mg a aproximadamente 2 250 mg.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg, y comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende así o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg, y comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente >2 250 mg a 3 000 mg.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere a la composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa, tal como la mencionada más arriba, para su utilización por administración oral de una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a 40,0 mg/kg, tres veces al día al comienzo de la comida.

Aún en otro aspecto, la invención se refiere a la composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes del tipo 2, tal como se ha mencionado más arriba, para su utilización por administración oral de una cantidad

del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a 40,0 mg/kg, tres veces al día al comienzo de la comida.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere a la composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa, tal y como se ha mencionado más arriba, para su utilización por administración oral de una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, tres veces al día al comienzo de la comida.

Aún en otro aspecto, la invención se refiere a la composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2, tal y como se ha mencionado más arriba, para su utilización por administración oral de una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, tres veces al día al comienzo de la comida.

La expresión «de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg del péptido XAP» significa también que la composición según la presente invención puede comprender todos los valores de 0,06 mg/kg a 30,0 mg/kg, sobre todo de 0,06 mg/kg a 0,08 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,09 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,1 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,5 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 1,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 2,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 5,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 10,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 15,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 20,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 25,0 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 30,0 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg» significa también que la composición según la presente invención puede comprender todos los valores de >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, sobre todo de 31 mg/kg a 40 mg/kg; de 32 mg/kg a 40 mg/kg; de 33 mg/kg a 40 mg/kg; de 34 mg/kg a 40 mg/kg; de 35 mg/kg a 40 mg/kg; de 36 mg/kg a 40 mg/kg; de 37 mg/kg a 40 mg/kg; de 38 mg/kg a 40 mg/kg; de 39 mg/kg a 40 mg/kg.

En un aspecto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende también o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, y/o por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, y/o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

En un aspecto particular, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, y/o por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, y/o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

Aún en un aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende así o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, y/o por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, y/o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

En un aspecto concreto de la descripción, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

En otro aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

En otro aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades comprende o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg o de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

Aún en otro aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre

todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg y por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, sobre todo de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg o sobre todo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 30,0 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

Aún en otro aspecto concreto, dicha composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades comprende o está constituida por una cantidad de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg del péptido VAP y por una cantidad del péptido AP de aproximadamente >30,0 mg/kg a 40 mg/kg, para una administración oral tres veces al día al comienzo de la comida.

La presente descripción se refiere igualmente a una composición farmacéutica que comprende un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en donde dicha composición comprende o está constituida por una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, sobre todo aproximadamente 0,066 mg/kg, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se refiere igualmente a una composición farmacéutica que comprende un péptido AP, en donde dicha composición comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, sobre todo aproximadamente 0,066 mg/kg, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las dosis se han establecido considerando un paciente adulto de 75 kg.

La expresión «de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg» significa que las dosis pueden ser un poco inferiores a 0,06 mg/kg o un poco superiores a 0,099 mg/kg, por ejemplo, 0,059 mg/kg o bien 0,0999 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg» puede también indicar los siguientes valores: de 0,06 mg/kg a 0,07 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,08 mg/kg; de 0,06 mg/kg a 0,09 mg/kg; de 0,07 mg/kg a 0,08 mg/kg; de 0,08 mg/kg a 0,09 mg/kg o de 0,07 mg/kg a 0,09 mg/kg.

La presente descripción se refiere igualmente a una composición farmacéutica, tal como la mencionada más arriba, en donde dicha composición está desprovista de vitamina B en un aspecto concreto, en donde dicha composición parece ventajosamente mejor sin vitamina B.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición farmacéutica contiene el péptido VAP y está desprovista del vitamina B.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición farmacéutica contiene el péptido AP y la vitamina B.

La presente descripción se refiere igualmente a una composición farmacéutica, tal como la mencionada mas arriba, en donde dicha composición comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, y/o por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, y/o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

La presente invención se refiere igualmente a una composición farmacéutica, tal como la mencionada más arriba, en donde dicha composición comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg y/o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

En un aspecto concreto de la descripción, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

Aún en otro aspecto concreto, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg, y por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 0,099 mg/kg.

Aún en otro aspecto de la descripción, dicha composición farmacéutica comprende un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, y está en forma unitaria y comprende o está constituida por una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Aún en otro aspecto de la invención, dicha composición farmacéutica comprende un péptido AP, y está en forma unitaria y comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a

aproximadamente 7,4 mg, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto concreto de la descripción, dicha composición farmacéutica está desprovista de vitamina B, en donde dicha composición parece ventajosamente mejor sin vitamina B.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición farmacéutica contiene el péptido VAP y está desprovista de vitamina B.

La expresión «de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg» debe ser comprendida como que puede indicar uno de los siguientes valores: 5,0; 5,1; 5,2; 5,3; 5,4; 5,5; 5,6; 5,7; 5,8; 5,9; 6,0; 6,1; 6,2; 6,3; 6,4; 6,5; 6,6; 6,7; 6,8; 6,9; 7,0; 7,1; 7,2; 7,3 o 7,4.

En un aspecto concreto, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, y/o dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, y/o dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg. Esto significa que en un aspecto concreto de la descripción, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida de una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, o bien por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg y por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg.

Esto significa que, en un aspecto concreto de la invención, dicha composición farmacéutica comprende o está constituida por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg, o bien por una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg y por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 7,4 mg.

En un aspecto concreto, dicha composición farmacéutica puede estar también en asociación con al menos un péptido del tipo APX'.

Dicha composición farmacéutica se puede administrar en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, pastillas, píldoras, gránulos o cualquier otra forma administrable por vía oral, y estar en forma de bolsitas de polvo, de ampollas de líquido, de frascos provistos de cuentagotas, y las otras formas análogas de preparaciones líquidas o de polvo.

Preferiblemente, la composición farmacéutica está en forma de comprimidos y se podrá ingerir con un poco de agua al comienzo de las comidas o bien triturada durante los primeros bocados de alimento.

En otro aspecto de la invención, dicha composición farmacéutica puede comprender uno o varios inhibidores de amilasas y/o uno o varios inhibidores de lipasas.

Además del aspecto terapéutico mencionado más arriba, los péptidos XAP según la invención se pueden utilizar igualmente en el ámbito nutracéutico (en tanto que complemento alimentario, por ejemplo) o en el ámbito alimentario (alimentos funcionales).

El término nutracéutico hace referencia al ingrediente activo presente en el estado natural o en forma sintética en un alimento que proporciona un efecto beneficioso para la salud. Por ejemplo, el yogur Danacol® de Danone contiene fitoesteroles que no están presentes de forma natural en el yogur. Se trata de ingredientes activos que se han añadido. Un alimento de consumo corriente (por ejemplo, una bebida, un producto lácteo, cereales, una galleta) puede contener un ingrediente activo nutracéutico y se puede considerar un alimento funcional si se ha demostrado que ejerce un efecto beneficioso sobre una o varias funciones destinatarias del organismo, más allá de los efectos nutritivos de base.

Un alimento se puede volver funcional según 5 estrategias: por eliminación de un compuesto conocido o identificado por sus efectos nocivos, por aumento de la concentración de un compuesto natural en un alimento, por la adición de un compuesto que suele estar ausente en la mayoría de los alimentos (pero cuyos efectos beneficiosos están demostrados), por el remplazo de un compuesto o la mejora de la biodisponibilidad de los compuestos alimentarios.

Los complementos alimentarios son productos alimentarios cuyo objetivo es completar el régimen alimentario normal y que constituyen una fuente concentrada de nutrientes o de otras sustancias que tienen un efecto nutricional o fisiológico solos o combinados. Tales productos están destinados a tomarse en unidades medidas y en poca cantidad.

En otro aspecto, la descripción se refiere también a la utilización de al menos un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, para la preparación de una composición nutracéutica o de un complemento alimentario.

En otro aspecto, la invención se refiere también a la utilización de al menos un péptido AP para la preparación de una composición nutracéutica o de un complemento alimentario.

En un aspecto concreto, la descripción se refiere a la utilización de al menos un péptido VAP.

En un aspecto concreto, la invención se refiere a la utilización de al menos un péptido AP.

En un aspecto concreto, la invención se refiere a la utilización de al menos un péptido VAP y a la utilización de al menos un péptido AP.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere así pues a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa y, sobre todo, la maltasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en donde dicha composición comprende una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto, la invención se refiere así a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido AP, en donde dicha composición comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere así pues a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa y, sobre todo, la maltasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en donde dicha composición comprende una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto, la invención se refiere así a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido AP, en donde dicha composición comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

En un aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica está desprovista de vitamina B en un aspecto concreto, en donde dicha composición parece ventajosamente mejor sin vitamina B.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición alimentaria o nutracéutica contiene el péptido VAP y está desprovista de vitamina B.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición alimentaria o nutracéutica contiene el péptido AP y la vitamina B.

En otro aspecto concreto de la descripción, la composición alimentaria o nutracéutica comprende una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,06 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg, y/o por una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg, y/o una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

En otro aspecto concreto de la invención, la composición alimentaria o nutracéutica comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg, y/o por una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg» debe entenderse como que puede cubrir unos valores un poco inferiores a 0,06 mg/kg, por ejemplo, 0,059 mg/kg.

La expresión «<0,6 mg/kg» se refiere a valores estrictamente inferiores a 0,6 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg» puede también indicar los siguientes valores: de 0,06 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,08 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,1 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,12 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,13 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,15 a 0,58 mg/kg; de 0,20 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,25 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,30 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,35 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,40 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,45 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,50 mg/kg a 0,58 mg/kg; de 0,55 mg/kg a 0,58 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg» se debe entender como que puede cubrir unos valores un poco inferiores a 0,6 mg/kg, por ejemplo 0,59 mg/kg, o bien unos valores un poco superiores a 14 mg/kg, por ejemplo, 14,1 mg/kg.

La expresión «de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg» puede también indicar los siguientes valores: 0,6 mg/kg; 0,8 mg/kg; 1,0 mg/kg; 1,2 mg/kg; 1,4 mg/kg; 1,6 mg/kg; 1,8 mg/kg; 2,0 mg/kg; 2,2 mg/kg; 2,4 mg/kg; 2,6 mg/kg; 2,8 mg/kg; 3,0 mg/kg; 3,2 mg/kg; 3,4 mg/kg; 3,6 mg/kg; 3,8 mg/kg; 3,0 mg/kg; 3,2 mg/kg; 3,4 mg/kg; 3,6 mg/kg; 3,8 mg/kg; 4,0 mg/kg; 4,2 mg/kg; 4,4 mg/kg; 4,6 mg/kg; 4,8 mg/kg; 5,0 mg/kg; 5,2 mg/kg; 5,4 mg/kg; 5,6 mg/kg; 5,8 mg/kg; 6,0 mg/kg; 6,2 mg/kg; 6,4 mg/kg; 6,6 mg/kg; 6,8 mg/kg; 7,0 mg/kg; 7,2 mg/kg; 7,4 mg/kg; 7,6 mg/kg; 7,8 mg/kg; 8,0 mg/kg; 8,2 mg/kg; 8,4 mg/kg; 8,6 mg/kg; 8,8 mg/kg; 9,0 mg/kg; 9,2 mg/kg; 9,4 mg/kg; 9,6 mg/kg; 9,8 mg/kg; 10,0 mg/kg; 10,2 mg/kg; 10,4 mg/kg; 10,6 mg/kg; 10,8 mg/kg; 11,2 mg/kg; 11,4 mg/kg; 11,6 mg/kg; 11,8 mg/kg; 12,2 mg/kg; 12,4 mg/kg; 12,6 mg/kg; 12,8 mg/kg; 13,0 mg/kg; 13,2 mg/kg; 13,4 mg/kg; 13,6 mg/kg; 13,8 mg/kg y 14,0 mg/kg o incluso de 0,6 mg/kg a 0,9 mg/kg; de 2 mg/kg a 3 mg/kg o 4 mg/kg o 5 mg/kg o 6 mg/kg o 7 mg/kg u 8 mg/kg o 9 mg/kg o 10 mg/kg u 11 mg/kg o 12 mg/kg o 13 mg/kg o 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica comprende una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica comprende una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

Aún en otro aspecto, dicha composición alimentaria o nutracéutica comprende una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg, y una cantidad del péptido AP de aproximadamente 0,06 mg/kg a <0,6 mg/kg o de aproximadamente 0,6 mg/kg a aproximadamente 14 mg/kg.

En un aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica puede estar también en asociación con al menos un péptido de tipo APX'.

En un aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica se puede administrar en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, pastillas, píldoras, gránulos o cualquier otra forma administrable por vía oral, y estar en forma de bolsitas de polvo, ampollas de líquido, frascos provistos de cuentagotas y las otras formas análogas de preparaciones líquidas o de polvos.

Preferiblemente, dicha composición alimentaria o nutracéutica está en forma de comprimidos y se podrá ingerir con un poco de agua al comienzo de las comidas o bien triturada con los primeros bocados de alimento.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere también a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa y, sobre todo, la maltasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en donde dicha composición está en forma unitaria y comprende una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 1 000 mg.

Aún en otro aspecto, la invención se refiere también a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido AP, en donde dicha composición está en forma unitaria y en donde comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 1 000 mg.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere también a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa y, sobre todo, la maltasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en donde dicha composición está en forma unitaria y en donde comprende una cantidad del péptido XAP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg.

Aún en otro aspecto, la invención se refiere también a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido AP, en donde dicha composición está en forma unitaria y en donde comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg.

En un aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica está desprovista de vitamina B en un aspecto concreto, en donde dicha composición parece ventajosamente mejor sin vitamina B.

En otro aspecto concreto de la descripción, dicha composición alimentaria o nutracéutica contiene el péptido VAP y está desprovisto de vitamina B.

En otro aspecto concreto de la invención, dicha composición alimentaria o nutracéutica contiene el péptido AP y la vitamina B.

La expresión «de aproximadamente 5 mg a <50 mg» debe entenderse como que puede cubrir valores un poco inferiores a 5 mg, por ejemplo, 4,9 mg.

La expresión «<50 mg» se refiere a los valores estrictamente inferiores a 50 mg.

La expresión «de aproximadamente 5 mg a <50 mg» puede indicar todos los valores de 10 mg a <50 mg, por ejemplo, de 5 mg a 49 mg; de 10 mg a 49 mg; de 15 mg a 49 mg; de 20 mg a 49 mg; de 25 mg a 49 mg, de 30 mg a 49 mg; de 35 mg a 49 mg; de 40 a 49 mg; de 45 mg a 49 mg.

La expresión «de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg» debe entenderse como que puede cubrir los valores un poco inferiores a 50 mg, por ejemplo, 49,9 mg, o bien los valores un poco superiores a 1 000 mg, por ejemplo, 1 000,01 mg.

La expresión «de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg» puede indicar todos los valores de 50 mg a 1 000 mg, por ejemplo, de 50 mg a 100 mg; de 100 mg a 200 mg; de 200 mg a 300 mg; de 300 mg a 400 mg; de 400 mg a 500 mg; de 500 mg a 600 mg; de 600 mg a 700 mg; de 800 mg a 900 mg o de 900 mg a 1 000 mg.

En otro aspecto, la descripción se refiere también a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa y, sobre todo, la maltasa, que comprende una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg, y/o una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg, y/o una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg. Esto significa así que dicha composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa comprende una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg o una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg o una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg, o bien una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg y una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg.

En otro aspecto, la invención se refiere también a una composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa, que comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg, y/o una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg. Esto significa así que dicha composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa comprende una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg o una cantidad de los péptidos VAP y AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg, o bien una cantidad del péptido VAP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg y una cantidad del péptido AP de aproximadamente 5 mg a <50 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1 000 mg.

En otro modo de realización, la descripción se refiere a la utilización de una composición que contiene cualquier péptido inhibidor de la α-glucosidasa y, sobre todo, cualquier péptido inhibidor de la maltasa, que presente una CI_{50} máxima para la α-glucosidasa, y sobre todo para la maltasa, de 12,50 mM para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa. La CI_{50} representa la concentración necesaria de péptido para inhibir el 50% de la actividad de la enzima.

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere también a la utilización de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos al 0,05% por motivos XAP, en el lugar del péptido XAP, tal y como se ha mencionado anteriormente.

En un aspecto concreto, dicho hidrolizado no se utiliza en combinación con un sensibilizante de insulina. Un «sensibilizante de insulina» hace referencia a cualquier molécula que permite disminuir la cantidad de glucosa en la sangre, a excepción de los péptidos XAP y/o APX'. Un sensibilizante de insulina puede ser, por ejemplo, el cromo, el vanadio, la vitamina B (sobre todo la niacina) o incluso las hierbas o los extractos vegetales, preferiblemente las hojas de *Banaba*, las bayas de gingseng, la canela y determinados compuestos de las uvas. Los siguientes compuestos se consideran igualmente «sensibilizantes de insulina»: ácido corosólico, el pteroestilbeno, el polímero de metilhidroxichalcona (MHCP) y los ginsensósidos. Los ejemplos preferibles de «sensibilizantes de insulina» son las biguanidas (tal como la metformina (Glucophage®)), las tiazolidinodionas (tales como pioglitazona (Actos®) y rosiglitazona (Avandia®)).

Aún en otro aspecto, la descripción se refiere también a la utilización de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos al 5% por motivos XAP, en lugar del péptido XAP, tal y como se ha mencionado más arriba.

La descripción se refiere así a la utilización de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% por motivos XAP o a la utilización de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos al 5% por motivos XAP, en lugar del péptido XAP, tal y como se ha mencionado más arriba.

En otro aspecto, la descripción se refiere también a la utilización de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% por motivos XAP o a la utilización de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos al 5% por motivos XAP, en tanto que inhibidor de la α-glucosidasa.

En otro aspecto concreto, la descripción se refiere así a una composición que comprende o está constituida al menos por un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, para su utilización en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa.

La expresión «al menos un hidrolizado de al menos una proteína» significa que el hidrolizado puede proceder de una

proteína única o de una mezcla de proteínas.

En dicha «mezcla de proteínas», las proteínas pueden ser de distinto origen o bien del mismo origen. Una mezcla de proteínas de distinto origen puede ser, por ejemplo, una mezcla de proteínas de salmón y de proteínas de carpa. Una mezcla de proteínas del mismo origen puede ser, por ejemplo, una mezcla de proteínas de salmón.

La expresión «<5% por motivos XAP» hace referencia a los valores estrictamente inferiores al 5% de motivos XAP, sobre todo el 4,9%.

La expresión «dicha proteína que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% por motivos XAP» significa que la secuencia total de aminoácidos de dicha proteína comprende o está constituida por un mínimo del 0,05% por motivos XAP, hasta un valor inferior al 5%, por motivos XAP, con respecto a la totalidad de los aminoácidos que constituyen la secuencia.

La expresión «como mínimo al 0,05% por motivos XAP» significa que dicha proteína puede comprender o estar constituida del 0,05% al 100% por motivos XAP y, sobre todo, el 0,05%; 0,5%; 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% y 100%.

La expresión «dicha proteína que comprende o está constituida como mínimo al 5% por motivos XAP» significa que como mínimo el 5% de la secuencia total de aminoácidos de dicha proteína comprende o está constituida por motivos XAP con respecto a la totalidad de los aminoácidos que constituyen la secuencia.

La expresión «como mínimo al 5% por motivos XAP» significa que dicha proteína puede comprender o estar constituida del 5% al 100% por motivos XAP y, sobre todo, al 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%.

Dichos motivos XAP pueden estar repartidos a lo largo de la secuencia o bien estar localizados solo en una parte de la secuencia. En este último caso, la secuencia de dicha proteína comprende así una sucesión de motivos XAP, por ejemplo, XAP-XAP-XAP-XAP o bien una sucesión de motivos XAP con aminoácidos (AA) intercalados que son diferentes de valina, alanina o prolina, por ejemplo, AA-XAP-XAP-AA-XAP-XAP-XAP-AA.

Queda claro que, tal y como se ha mencionado más arriba, el término «XAP» se debe entender como el tripéptido VAP o el dipéptido AP, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, puede estar constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP o al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por el péptido AP o al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por los motivos VAP y AP, o bien al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP y al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP.

Cuando dicha proteína comprende al menos del 0,05% al <5% o al menos el 5% de motivos VAP y AP, la secuencia de esta última comprende motivos VAP y motivos AP, en donde la suma de los porcentajes de motivos VAP y AP con respecto a la totalidad de los aminoácidos que constituyen la secuencia debe ser como mínimo del 0,05% al <5% o el 5%.

Cuando dicha proteína comprende al menos del 0,05% al <5% o al menos el 5% de motivos VAP y AP, los motivos VAP y AP se pueden repartir a lo largo de la secuencia, o bien pueden estar localizados solo en una parte de la secuencia. Dichos motivos VAP pueden estar repartidos con independencia de los motivos AP, o bien los motivos VAP pueden estar reagrupados con los motivos AP.

En un aspecto de la descripción, dicha composición que comprende o consiste en al menos un hidrolizado se utiliza en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa, sobre todo la diabetes de tipo 2.

En otro aspecto de la descripción, el hidrolizado se utiliza como inhibidor de la α-glucosidasa.

En otro aspecto, en dicha composición que comprende o consiste en al menos un hidrolizado, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP y/o comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP. Esto significa que en dicha composición que comprende o está constituida al menos por un hidrolizado, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP, o dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP. Esto significa también que en dicha composición que comprende o consiste en al menos un hidrolizado, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP y dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP.

En un aspecto de la descripción, en dicha composición que comprende o consiste en al menos un hidrolizado, dicha

proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP y AP.

En otro aspecto concreto, la descripción se refiere así a una composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa que comprende o consiste en al menos un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en asociación con al menos un péptido de tipo APX'.

En otro aspecto concreto, la descripción se refiere así a una composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa que comprende o consiste en al menos un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, en asociación con al menos un péptido APFPE (SEQ ID n.º 1) y/o APFPEVF (SEQ ID n.º 2).

Así, en un aspecto concreto de la descripción, la composición para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la α-glucosidasa comprende o está constituida por al menos las asociaciones siguientes:

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP + el péptido APFPE (SEQ ID n.º 1), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP + el péptido APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP + el péptido APFPE (SEQ ID n.º 1), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP + el péptido APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP + el péptido APFPE (SEQ ID n.º 1) + el péptido APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP + el péptido APFPE (SEQ ID n.º 1) + el péptido APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP + un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP + el péptido APFPE (SEQ ID n.º 1) + el péptido APFPEVF (SEQ ID n.º 2), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP + un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP + el péptido APFPE (SEQ ID n.º 1), o

- un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP + un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP + el péptido APFPEVF (SEQ ID n.º 2).

En otro aspecto concreto, la presente descripción se refiere también a una composición farmacéutica que comprende o está constituida al menos por un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina.

En otro aspecto concreto, dicha composición farmacéutica que comprende o consiste en al menos un hidrolizado puede igualmente comprender al menos un péptido de tipo APX'.

En un aspecto concreto, dicha composición farmacéutica que comprende o consiste en al menos un hidrolizado se puede administrar en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, pastillas, píldoras, gránulos o cualquier otra forma administrable por vía oral, o puede estar en forma de bolsitas de polvo, ampollas de líquido, frascos provistos de cuentagotas yo las otras formas análogas de preparaciones líquidas o de polvo.

En un aspecto concreto de la descripción, el hidrolizado puede igualmente estar incorporado en una matriz alimentaria. Una matriz alimentaria significa bebidas, yogures, confitería, cereales, sopas, salsas, zumos de fruta y legumbres, materias grasas, surtidos, pan).

Preferiblemente, dicha composición farmacéutica que comprende o consiste en al menos un hidrolizado está en forma

de comprimidos y se podrá ingerir con un poco de agua al comienzo de las comidas o bien triturado con los primeros bocados de alimento.

Además del aspecto terapéutico mencionado más arriba, los hidrolizados de al menos una proteína que comprenden o están constituidos al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP según la presente descripción, pueden utilizarse igualmente en el ámbito nutracéutico o en el ámbito alimentario (en tanto que complemento alimentario, por ejemplo).

La descripción se refiere así a la utilización de al menos un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, para la preparación de una composición nutracéutica o de un complemento alimentario.

En un aspecto concreto, en dicha utilización de al menos un hidrolizado de al menos una proteína, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP.

En un aspecto concreto, en dicha utilización de al menos un hidrolizado de al menos una proteína, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP.

En un aspecto concreto, en dicha utilización de al menos un hidrolizado de al menos una proteína, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP y AP.

En un aspecto concreto, en dicha utilización de al menos un hidrolizado de al menos una proteína, dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos VAP y dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP.

En otro aspecto concreto, la descripción se refiere a una composición alimentaria o nutracéutica que comprende o está constituida por al menos un hidrolizado de al menos una proteína, en donde dicha proteína comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina.

En otro aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica que comprende o consiste en al menos un hidrolizado puede igualmente comprender al menos un péptido de tipo APX'.

En un aspecto concreto, dicha composición alimentaria o nutracéutica que comprende o consiste en al menos un hidrolizado se puede administrar en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, pastillas, píldoras, gránulos o cualquier otra forma administrable por vía oral, y puede estar en forma de bolsitas de polvo, ampollas de líquido, frascos provistos de cuentagotas y las otras formas análogas de preparaciones líquidas o de polvo.

Preferiblemente, dicha composición alimentaria o nutracéutica que comprende o consiste en al menos un hidrolizado está en forma de comprimidos y se podrá ingerir con un poco de agua al comienzo de las comidas o bien triturada con los primeros bocados de alimento.

En otro aspecto, la descripción se refiere también a un procedimiento de preparación de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o que está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina.

Dicho hidrolizado puede obtenerse por vía química o por vía enzimática.

La hidrólisis química se realiza con la ayuda de un ácido fuerte, por ejemplo, HCl en cantidad 3 M, de 12 h a 24 h.

Dicha hidrólisis química se realiza igualmente en condiciones estrictas de pH, más en concreto a pH 2.

No obstante, hay que señalar que tal hidrólisis química puede alterar la calidad del hidrolizado obtenido. Así pues, la hidrólisis por vía enzimática es la preferida.

En un aspecto, la descripción se refiere así a un procedimiento de preparación de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o que está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, que comprende las etapas siguientes:

- La disolución de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP en agua con el objeto de obtener una solución acuosa;

- La adición de al menos una enzima a dicha solución acuosa en una cantidad apropiada para hidrolizar dicha proteína.

«La adición de al menos una enzima» significa que el hidrolizado se puede realizar mediante una mezcla de enzimas o mediante una sucesión de hidrólisis.

Una «sucesión de hidrólisis» significa al menos dos hidrólisis (la enzima A y luego la enzima B, por ejemplo, en donde la enzima A sirve para realizar la hidrólisis máxima).

En un aspecto, la descripción se refiere así a un procedimiento de preparación de un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o que está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP, en el cual X representa el conjunto vacío o una valina, que comprende las siguientes etapas:

- La disolución de al menos una proteína que comprende o que está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP en agua con el objeto de obtener una solución acuosa;

- La adición de una enzima a dicha solución acuosa en la cantidad apropiada para hidrolizar dicha proteína.

En un aspecto concreto de la descripción, la disolución de al menos una proteína en agua consiste en una trituración de por lo menos una fuente de proteínas.

Así pues, esto significa que la materia prima de partida de dicho procedimiento de preparación de un hidrolizado puede ser una proteína, en especial una proteína purificada, disponible en el mercado, o bien una trituración de al menos una fuente de proteínas.

Las proteínas purificadas están, por ejemplo, disponibles en el mercado en BNLfood (Belovo) (http://www.bnlfood.com/); Setalg (http://www.setalg.fr/); Copalis (http://www.copalis.fr/fr); Vegan (http://www.veganproteins.com/); Solabia (http://www.solabia.fr/), etc.

Una «trituración de al menos una fuente de proteínas» puede ser, por ejemplo, una harina animal, por ejemplo, una harina de pescado, o bien una trituración de carne de pescado. Dicha fuente de proteínas puede ser, por ejemplo, de origen vegetal, de origen marino o de origen animal, e incluso procedentes de insectos.

Cuando la materia prima de partida de dicho procedimiento de preparación de un hidrolizado está en forma de polvo (por ejemplo, una harina de pescado), entonces se necesita una simple disolución.

Cuando la materia prima de partida de dicho procedimiento de preparación de un hidrolizado son coproductos ricos en proteínas (por ejemplo, filetes de pescado, un buey de mar, algas, etc.), entonces se necesita hacer una trituración.

En un aspecto concreto, la descripción se refiere también a un procedimiento de preparación de un hidrolizado tal y como se menciona más arriba, en donde dicho procedimiento comprende las siguientes etapas:

- La disolución de al menos una proteína que comprende o que está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP en agua con el objeto de obtener una solución acuosa;

- La incubación de dicha solución acuosa durante 15 min a 90 °C;

- La adición de al menos una enzima a dicha solución acuosa en la cantidad apropiada para hidrolizar dicha proteína;

- La incubación de la solución acuosa obtenida en la etapa anterior durante un periodo que comprende de 6 a 24 h, a una de un abanico de temperaturas de 35 °C a 55 °C.

En otro aspecto concreto, la descripción se refiere también a un procedimiento de preparación de un hidrolizado tal y como se menciona más arriba, en donde dicho procedimiento comprende las etapas siguientes:

- La disolución de al menos una proteína que comprende o que está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP en agua con el objeto de obtener una solución acuosa;

- La incubación de dicha solución acuosa durante 15 min a 90 °C;

- La adición de una enzima a dicha solución acuosa en la cantidad apropiada para hidrolizar dicha proteína;

- La incubación de la solución acuosa obtenida en la etapa anterior durante un periodo que comprende de 6 a 24 h, a una de un abanico de temperaturas de 35 °C a 55 °C.

La incubación mencionada más arriba contempla la desnaturalización de las proteínas y favorecer la proteólisis.

La expresión «un periodo que comprende de 6 a 24 h» se debe entender como todas las horas de 6 a 24 h, a saber, 6 h, 7 h, 8 h, 9 h, 10 h, 11 h, 12 h, 13 h, 14 h, 15 h, 16 h, 17 h, 18 h, 19 h, 20 h, 21 h, 22 h, 23 h y 24 h. Esto significa también 6 h y 30 min, 7 h y 30 min, 8 h y 30 min, 9 h y 30 min, 10 h y 30 min, 11 h y 30 min, 12 h y 30 min, 13 h y 30 min, 14 h y 30 min, 15 h y 30 min, 16 h y 30 min, 17 h y 30 min, 18 h y 30 min, 19 h y 30 min, 20 h y 30 min; 21 h y 30 min; 21 h y 30 min; 22 h y 30 min; 23 h y 30 min, y 24 h y 30 min.

La expresión «un abanico de temperaturas de 35 °C a 55 °C» se debe entender como todas las temperaturas comprendidas de 35 °C a 55 °C, a saber, 36 °C, 37 °C, 38 °C, 39 °C, 40 °C, 41 °C, 42 °C, 43 °C, 44 °C, 45 °C, 46 °C, 47 °C, 48 °C, 49 °C, 50 °C, 51 °C, 52 °C, 53 °C, 54 °C y 55 °C.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación tal y como se menciona más arriba, la cantidad apropiada de enzima para hidrolizar una solución de proteínas del 5 al 25% (p/p) es del 0,1% al 5% en peso del extracto proteico.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación tal como el mencionado más arriba, dicho procedimiento comprende una o varias etapas de ajuste del pH en función de la enzima utilizada, en especial por la adición de HCl o de KOH y/o NaOH en la cantidad apropiada para obtener un pH comprendido entre 3,5 y 8.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación, tal y como se menciona más arriba, dicho procedimiento comprende una o varias etapas de inactivación de la enzima.

La enzima se puede inactivar al aumentar la temperatura del medio de reacción a 95 °C durante 15 min con el objeto de proceder a la detención de la proteólisis por desnaturalización térmica de la enzima.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación, tal y como se menciona más arriba, dicho procedimiento comprende una etapa de separación de dicho hidrolizado obtenido a partir del resto de la mezcla de reacción.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación, tal y como se menciona más arriba, la separación del hidrolizado de al menos una proteína a partir del resto de la mezcla de reacción se realiza por centrifugación a una velocidad comprendida entre 4 000 y 7 000 rpm, y a continuación se elimina el sedimento obtenido.

En otro aspecto concreto del procedimiento de preparación, tal y como se menciona más arriba, dicho procedimiento comprende igualmente una etapa de filtración con anterioridad a dicha etapa de centrifugación. La filtración del medio de reacción permite eliminar las materias sólidas.

La hidrólisis enzimática se realiza mediante una enzima cuidadosamente seleccionada para permitir obtener un hidrolizado de al menos una proteína que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP.

La hidrólisis enzimática se realiza mediante una preparación de enzima purificada o mediante una mezcla no purificada. La preparación enzimática puede contener endo- o exopeptidasas, proteasas o una mezcla.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación tal como el mencionado más arriba, la enzima se elige entre alcalasa, Flavourzyme®, peptidasa, Promod®, pepsina, tripsina, proteasa N o Protamex®.

En un aspecto concreto del procedimiento de preparación tal como el mencionado más arriba, la preparación enzimática utilizada es Flavourzyme® (mezcla de proteasas o peptidasas).

En otro aspecto concreto del procedimiento de preparación tal como el mencionado más arriba, la preparación enzimática utilizada es Protamex® (mezcla de proteasas (la alcalasa de *Bacillus licheniformis* y la neutrasa de *Bacillus amyloquefaciens*)).

En otro aspecto, la hidrólisis se realiza mediante una sucesión de enzimas, a saber, Protamex® y luego pepsina.

Además, en un aspecto concreto de la descripción, el hidrolizado de al menos una proteína tal como la mencionada más arriba se puede utilizar solo o en combinación con otras moléculas.

Para los fines de la presente invención, dichos péptidos VAP y AP pueden ser péptidos de síntesis, péptidos de origen vegetal, de origen marino o de origen animal, incluso péptidos procedentes de proteínas de insectos.

Asimismo, también están los péptidos contenidos en los hidrolizados anteriormente definidos.

Los péptidos de origen vegetal pueden así proceder de proteínas de las leguminosas, de proteínas de los cereales; de proteínas de semillas oleaginosas; o de proteínas de los frutos oleaginosos.

Los péptidos de origen marino pueden así proceder de proteínas de peces o de proteínas de algas.

Los péptidos de origen animal pueden así proceder de proteínas de huevo o de proteínas de la leche.

Los péptidos procedentes de insectos pueden así proceder de proteínas de insectos comestibles.

Siempre para los fines de la presente descripción, la proteína que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos XAP se elige igualmente entre la proteína de los peces, la proteína de las algas, la proteína de la leche, la proteína de las leguminosas, la proteína de los cereales, la proteína de las semillas oleaginosas, la proteína de los frutos oleaginosos y la proteína de los insectos comestibles.

En un aspecto concreto de la descripción, dicha proteína de los peces se elige así entre las proteínas de carpa, de salmón, de sardina, de merluza, de bacalao y de abadejo.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de las algas se elige entre las proteínas de *Chondrus*, *Palmaria*, *Ulva*, *Porphyra*, *Laminaria*, *Ascophyllum*, *Undaria* e *Himanthallia*.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de huevo se elige entre la ovomucina, la lisozima y la ovotransferrina.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de la leche se elige entre las proteínas del lactosuero y de la caseína. La leche puede proceder en particular de vaca, de yegua o de oveja. Más concretamente, dichas proteínas de la leche pueden ser una β-lactoglobulina, una caseína, en particular una α-S1-caseína o una β-caseína, una lactoferrina.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de leguminosas se elige entre las proteínas de las lentejas, de las judías blancas y verdes, de los garbanzos, de las habas, de los guisantes secos y de la soja. Más concretamente, dicha proteína puede ser una legumina, en especial una legumina A.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de los cereales se elige entre las proteínas de maíz, de mijo, de cebada, de centeno, de trigo sarraceno, de quínoa y de arroz.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de las semillas oleaginosas se elige entre las proteínas de cacahuete, de calabaza gigante, de lino, de calabaza.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de las proteínas de los frutos oleaginosos se elige entre las proteínas de almendras, de nueces, de cacahuetes, de avellanas, de piñones de pino, de pistachos, de argán y de olivas.

En otro aspecto concreto, dicha proteína de proteínas de insectos comestibles se elige entre las proteínas de grillos, de langostas, de saltamontes y de gusanos de la harina.

La proteína según la descripción puede igualmente ser una proteína fibrosa, en particular elastina, colágeno o actina. La actina puede ser en particular de origen marino (procedente de salmón), la elastina de origen animal (procedente de bovino) y el colágeno de origen animal o marino (procedente de bovino o de salmón).

La invención se ilustrará mejor mediante los ejemplos y las figuras que vienen a continuación. Los siguientes ejemplos pretenden aclarar el objeto de la invención e ilustrar los modos de realización ventajosos, pero en ningún caso pretenden restringir el alcance de la invención.

Leyenda de figuras

En la figura 1 se representa la evolución del porcentaje de inhibición de la actividad de la α-glucosidasa en función de la concentración de acarbosa.

En la abscisa se representa la concentración de acarbosa (en milimolar) y en la ordenada se representa el porcentaje de inhibición de la α-glucosidasa.

En la figura 2 se representa la evolución del porcentaje de inhibición de la actividad de la α-glucosidasa en función de la concentración del péptido AP.

En la abscisa se representa la concentración del péptido AP (en milimolar) y en la ordenada se representa el porcentaje de inhibición de la α-glucosidasa.

En la figura 3 se representa la evolución del porcentaje de inhibición de la actividad de la α-glucosidasa en función de la concentración del péptido VAP.

En la abscisa se representa la concentración del péptido VAP (en milimolar) y en la ordenada se representa el porcentaje de inhibición de la α-glucosidasa.

En la figura 4 se representa la linealización de Lineweaver-Burk de la reacción de hidrólisis del p-NPG (el p-nitrofenilglucopiranósido) en presencia de diferentes concentraciones del inhibidor peptídico LKP.

En la abscisa se representa la concentración del sustrato (en 1/[p-NPG] en mol^{-1}) y en la ordenada se representa la velocidad (en 1/Vi en μmol^{-1} min^{-1}).

Las cuatro rectas representan la concentración de los inhibidores siguientes:

- Círculo relleno: sin inhibidor
- Círculo vacío: análisis en presencia de LKP a 5 mM
- Triángulo relleno: análisis en presencia de LKP a 6 mM
- Triángulo vacío: análisis en presencia de LKP a 7,5 mM.

Esta linealización permite determinar las constantes K_m y $V_{máx}$ de la enzima mediante la representación de los inversos.

En la figura 5 se representa la linealización de Lineweaver-Burk de la reacción de la hidrólisis de p-NPG (el p-nitrofenilglucopiranósido) en presencia de diferentes concentraciones del inhibidor peptídico AP.

En la abscisa se representa la concentración del sustrato (en 1/[p-NPG] en μmol^{-1}) y en la ordenada se representa la

velocidad (en 1/Vi en μmol^{-1} min^{-1}).

Las tres rectas son las siguientes:

- Círculo relleno: sin enzima

- Círculo vacío: análisis en presencia de AP a 50 µM

- Triángulo relleno: análisis en presencia de AP a 100 µM

En la figura 6 se representa la evolución de la glucemia (en valores brutos, es decir, la glucemia total) a lo largo de la prueba de tolerancia a la maltosa.

En la abscisa se representa el tiempo (en minutos) y en la ordenada se representa la glucemia (mg/dl).

En la figura 7 se representan los valores máximos de la glucemia a los que se ha restado el valor en reposo de la prueba oral de tolerancia a la maltosa.

El valor en reposo es de 150 mg/dl. La glucemia basal (en reposo) se ha medido 5 min antes de la primera administración por vía gástrica. Tomando como referencia la condición de control (solución salina administrada antes de la infusión de maltosa), la glucemia basal media fue de 143 ± 34,2 mg/dl.

En la abscisa se representan los grupos con los diferentes péptidos analizados y en la ordenada se representa la glucemia (mg/dl).

Los grupos con los diferentes péptidos analizados son los siguientes:

- Ctrl represente el grupo de control

- AP representa el grupo analizado con el péptido AP

- VAP representa el grupo analizado con el péptido VAP

- AP + VAP representa el grupo analizado con el péptido AP + VAP

La variación de la altura máxima representa el Δ_{Pico}, es decir, la glucemia total máxima menos la glucemia en reposo. Más exactamente, esto representa la variación máxima de la glucemia relacionada con la condición experimental analizada, es decir, el valor de la glucemia más elevada menos el valor basal medido 5 min antes de la primera administración por vía gástrica.

En la figura 8 se representa el área bajo la curva tras restarle el valor en reposo para los resultados de los cuatro grupos analizados que se mencionan más arriba (Ctrl, AP, VAP, AP + VAP).

En la abscisa se representan los grupos con los diferentes péptidos analizados y en la ordenada se representa el valor del área (mg/dl · hora = mg/dl h).

En la figura 9 se representa la metodología utilizada para fraccionar y concentrar los péptidos de bajo peso molecular procedentes de la hidrólisis de las proteínas del lactosuero de cabra.

UF significa ultrafiltración.

30 kDa :15 min/7 500g/4 °C significa una filtración sobre el filtro de 30 kDa durante 15 min a 7 500*g* y 4 °C.

10 kDa :15 min/15 000g/4 °C significa una filtración sobre el filtro de 10 kDa durante 15 min a 15 000*g* y 4 °C.

5kDa :15 min/15 000g/4 °C significa una filtración sobre el filtro de 5 kDa durante 15 min a 15 000*g* y 4 °C.

En la figura 10 se representa el perfil de masas de los hidrolizados proteicos realizados por una enzima (Flavourzyme® o Protamex®) con o sin la regulación de pH.

En la abscisa se representa el tamaño de los hidrolizados (más exactamente, la masa molecular) y en la ordenada se representa el porcentaje de las proteínas recuperadas por clase (es decir, por fracción molecular). Las diferentes fracciones moleculares son las siguientes:

>30kDa: proteínas y péptidos con una masa superior a 30 kDa,

30 kDa > X > 10 kDa: proteínas y péptidos con masa comprendida entre 30 y 10 kDa,

10 kDa > X > 3 kDa: proteínas y péptidos con una masa comprendida entre 10 y 3 kDa,

<3 kDa: proteínas y péptidos con una masa inferior a 3 kDa.

En la figura 11 se representa el análisis por LC-MS (HPLC-MS) en la columna Waters BEH del hidrolizado de CPL por las Flavourzyme® en agua ultrapura.

En la abscisa se representa el tiempo (en minutos) y en la ordenada se representa la intensidad (en mUA [UA = unidad arbitraria]).

El caso A representa el espectro UV, unidades arbitrarias en mUA, para el UV a 215 nm;

El caso B representa el espectro de masas completo en número de iones;

El caso C representa el espectro de masas del ion m/z 187.

Ejemplos

Ejemplo 1: Prueba de inhibición *in vitro* de la actividad de la α-glucosidasa en presencia de los diferentes péptidos sintéticos.

Material y métodos

La prueba de inhibición de la actividad de la α-glucosidasa en presencia de los péptidos sintéticos VW, VY, IY, KY, VY, KW, AP, LKP, GPL, VAP y AKK se ha realizado según el protocolo que viene a continuación (según lo descrito en Kang et al., *Journal of Medicinal Plants Research* 2012, 6: 2850-2856). Los péptidos sintéticos han sido proporcionados por Genosphere Biotechnologies.

La α-glucosidasa que se ha utilizado es la α-glucosidasa recombinante de *Saccharomyces cerevisiae* que es una maltasa.

Se han mezclado 20 µl de la α-glucosidasa en el tampón de fosfato de sodio (pH 6,8) a 0,1 mol/l a una concentración final de 0,2 U/ml con 8 µl de la muestra del péptido o de acarbosa (comercializado por Bayer AG con el nombre de Glucor) a diferentes concentraciones (de 0,01 a 50 mmol/l). Las muestras se habían solubilizado con anterioridad en agua desionizada que contiene el 10% de DMSO (sulfóxido de dimetilo).

La acarbosa, inhibidor sintético comercial, considerado un inhibidor con respecto a la α-glucosidasa, se ha utilizado aquí a modo de control positivo.

Después de una incubación a 37 °C durante 20 min, y con el objetivo de iniciar la reacción, se le han añadido a la mezcla 20 µl del sustrato p-NPG (p-nitrofenilglucopiranósido) a 2,5 mM (preparado en el mismo tampón citado más arriba).

El medio de reacción se ha incubado durante 30 min a 37 °C, a continuación, se ha puesto fin a la reacción con la adición de 80 µl de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) a 0,3 M.

La cantidad de producto formado (p-nitrofenilo (p-NP) de color amarillo) se ha medido por espectrofotometría (absorbancia a 410 nm, lector de microplacas VersaMax™).

El análisis se ha realizado en una microplaca de 96 pocillos.

Todos los análisis de inhibición se han realizado por triplicado.

El porcentaje de inhibición se ha calculado según la ecuación que viene a continuación:

$$\%\ \text{de inhibición} = \left[1 - \frac{DO_{muestra_problema} - DO_{blanco_problema}}{DO_{control_problema} - DO_{blanco_control}}\right] \times 100$$

$DO_{muestra_problema}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por la mezcla «muestra + enzima + sustrato».

$DO_{blanco_problema}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por la mezcla «muestra + tampón».

$DO_{control_problema}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por la mezcla «tampón + enzima + sustrato»

$DO_{blanco_control}$ corresponde a la densidad óptica obtenida por el tampón.

Resultados

Cada péptido VW, VY, IY, KY, VY, KW, AP, LKP, GPL, VAP y AKK se ha analizado según el protocolo descrito más arriba en el apartado de Material y métodos.

Se han utilizado diferentes concentraciones de estos péptidos para determinar su CI_{50}, es decir, la concentración necesaria para inhibir el 50% de la actividad de la α-glucosidasa.

La evolución del porcentaje de inhibición en función de la concentración de acarbosa (control positivo) se presenta en la figura 1.

La evolución del porcentaje de inhibición en función de la concentración del péptido AP y del péptido VAP se presenta, respectivamente, en la figura 2 y en la figura 3.

Los resultados de la CI_{50} de los péptidos, así como los de la acarbosa, se presentan en la tabla 1 que viene a continuación:

Secuencia de péptidos	**Actividad inhibidora de la α-glucosidasa (CI_{50}) en mM**
Acarbosa	11,92 ± 1,44
Miglitol	39 ± 0,96
LKP	7,11 ± 0,20
GPL	4,82 ± 0,15
VIY	Ninguna inhibición
AKK	Ninguna inhibición
VAP	0,020 ± 0,0002
AP	0,0136 ± 0,001
IY	12,27 ± 0,25
KY	10,96 ± 0,1
KW	12,76 ± 0,98
VW	Ninguna inhibición
VY	2,7 ± 0,18
IY	12,26 ± 0,25

Determinados péptidos muestran, por lo tanto, una inhibición de la actividad de la α-glucosidasa *in vitro*.

Entre estos péptidos, los péptidos AP y VAP poseen la actividad inhibidora más elevada entre los péptidos analizados, con una CI_{50} de 13,64 ± 0,92 µM y 20,01 ± 0,21 µM, respectivamente.

La CI_{50} del péptido AP es aproximadamente 874 veces más débil que la de la acarbosa, control positivo (CI_{50} = 11 920 ± 1 444 µM), mientras que la del péptido VAP es aproximadamente 595 veces más débil.

Estos resultados confirman, por lo tanto, que los péptidos VAP, AP, VY, LKP, IY, KY y KW y GPL ampliamente presentes en las proteínas de los coproductos marinos inhiben la α-glucosidasa y, en concreto, la maltasa.

No obstante, los péptidos LKP, GPL, IY, KY, KW y VY son inhibidores débiles de la α-glucosidasa, con respecto a los péptidos AP y VAP. De hecho, los péptidos IY, KY y KW presentan unas CI_{50} cercanas a la de la acarbosa, y los péptidos LKP, GPL y VY presentan, respectivamente, una CI_{50} aproximadamente 355, 243 y 135 veces más elevada que la de los péptidos AP y VAP.

Ejemplo 2: Determinación *in vitro* de la inhibición de la α-glucosidasa por los péptidos sintéticos. Análisis número 2

Material y métodos

Se mezclan 20 µl de α-glucosidasa en el tampón de fosfato de potasio a 0,1 M (pH 6,8) a 1,6 U/ml, con 8 µl de la muestra de péptido o del inhibidor de referencia a diferentes concentraciones.

Las muestras se solubilizan previamente en agua milliQ que contiene DMSO al 10% (disponible en Sigma con la referencia 472301).

Después de una incubación previa a 37 °C durante 15 min, se le añaden a la mezcla 20 µl del sustrato p-NPG a 20 mM en el tampón de fosfato de potasio a 0,1 M (pH 6,8) para iniciar la reacción.

El medio de reacción se incuba durante 30 min a 37 °C antes de parar la reacción mediante la adición de 80 µl de una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) a 1 M.

La cantidad de producto formado (p-nitrofenilo) se mide mediante la lectura de la absorbancia a 410 nm con el uso del espectrofotómetro Fluostar Omega (BMG Labtech, Alemania).

Todos los análisis de inhibición se realizan por triplicado.

La enzima utilizada es la α-glucosidasa recombinante de *S. cerevisiae* (se trata de una maltasa disponible en Sigma con la referencia G0660-750UN).

El sustrato utilizado es el 4-nitrofenil-α-D-glucopiranósido (p-NPG) (disponible en Sigma con la referencia N1377).

Los péptidos fueron suministrados por Genosphere y presentan una pureza >95%.

Los inhibidores utilizados son acarbosa (disponible en Sigma con la referencia A8980), el miglitol (disponible en Sigma con la referencia M1574) y la voglibosa (disponible en Sigma con la referencia 50359).

Los resultados de la CI_{50} de los péptidos analizados y de la acarbosa, del miglitol y de la voglibosa, se presentan en la tabla 2 que viene a continuación.

Referencia/Secuencia de los péptidos	**Actividad inhibidora de la α-glucosidasa**		
	PM (g/mol)	**(CI_{50}) en mmol/ l**	**(CI_{50}) en mg/ml**
Acarbosa	645,6	11,92 ± 1,44	7,696
Miglitol	207,22	37,475 ±0,69	7,766
Voglibosa	267,28	24,41 ± 0,47	0,2673
AP	186	0,0136 ± 0,001-	0,0025
VAP	285	0,020 ± 0,0002	0,0057
SAPLRVY (SEQ ID N.º 3)	804	1,765 ± 0,18	1,4191
VAPFPEV (SEQ ID N.º 4)	757	2,68 ± 0,04	2,0288
VY	280	2,7 ± 0,18	0,7560
AVPYQR (SEQ ID N.º 5)	732	3,19 ± 0,18	2,3351
VAPG (SEQ ID N.º 6)	342	4,05 ± 0,09	1,3851
VGVAPG (SEQ ID N.º 7)	498	4,59 ± 0,06	2,2858
GPL	285	4,82 ± 0,15	1,3737
LKP	356	7,11 ± 0,20	2,5312
KY	309	10,96 ± 0,1	3,3866
IY	294	12,26 ± 0,25	3,6044
KW	332	12,76 ± 0,98	4,2363
Nota: PM significa peso molecular			

Los resultados confirman que los péptidos AP y VAP inhiben con fuerza la α-glucosidasa, con respecto a las 3 referencias: la acarbosa, el miglitol y la voglibosa, inhibidores conocidos de las glucosidasas.

Ejemplo 3: Determinación *in vitro* del tipo de inhibición de los péptidos LKP y AP

A partir de las velocidades iniciales, se han representado las representaciones de Lineweaver-Burk para cada concentración del inhibidor LKP y se ha determinado el tipo de inhibición. El péptido sintético LKP fue suministrado por Genosphere Biotechnologies.

Los resultados se presentan en la figura 4.

Según los resultados, la inhibición de la degradación del p-NPG debida al péptido LKP es de tipo competitivo: todas las rectas se cortan en el punto $1/V_{máx}$.

Este estudio demuestra que los péptidos LKP tienen una actividad inhibidora de la α-glucosidasa pancreática.

Este estudio se ha realizado igualmente con el péptido AP que fue suministrado por Genosphere Biotechnologies.

A partir de las velocidades iniciales, se han representado las representaciones de Lineweaver-Burk para cada concentración del inhibidor AP y se ha determinado el tipo de inhibición.

Los resultados se presentan en la figura 5.

Según los resultados, la inhibición de la degradación del p-NPG debida al péptido AP es de tipo competitivo: todas las rectas se cortan en el punto $1/V_{máx}$.

Este estudio demuestra que los péptidos AP tienen una fuerte actividad inhibidora de la α-glucosidasa pancreática.

Ejemplo 4: Análisis de inhibición *in vivo* de la actividad de la α-glucosidasa en presencia de diferentes péptidos sintéticos

Material y métodos

La actividad inhibidora de los péptidos AP y VAP y el efecto de los péptidos AP y VAP sobre la respuesta glucémica se pueden medir durante una prueba oral de tolerancia a la sacarosa y a la maltosa *in vivo* en el ratón db/db.

Los ratones tienen 4 semanas de edad y cada ratón es su propio testigo.

Se han realizado cinco pruebas orales de tolerancia a la sacarosa y/o maltosa (4 g/kg) en cada ratón con un intervalo mínimo de 72 h.

El orden se determina para anular un posible efecto de confusión debido a una modificación de la composición corporal de los ratones durante las 3 semanas de estudio.

Las 5 pruebas son las siguientes:

- Un análisis de control (que comprende una solución salina al 0,9%);
- Un análisis con el péptido AP (a una concentración de 500 mg/kg);
- Un análisis con el péptido VAP (a una concentración de 500 mg/kg);
- Un análisis con el péptido AP (a una concentración de 500 mg/kg) y con el péptido VAP (a una concentración de 500 mg/kg);
- Un análisis con acarbosa (a una concentración de 10 mg/kg).

La sacarosa o la maltosa y los productos problema se diluyen en una solución salina al 0,9%, y a continuación se administran directamente por vía gástrica.

Cinco minutos después de la administración por vía gástrica, se realizará una primera extracción de sangre en la cola para determinar la glucemia (t = 0); a continuación, se realizarán otras 6 extracciones al cabo de 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min.

El criterio de evaluación principal es la medición del área bajo la curva glucémica a lo largo de las 2 h que siguen a la administración de la sacarosa o de la maltosa (ABC, área bajo la curva, 0 a 120 min, en g min/l).

La α-glucosidasa que se puede utilizar para los objetivos de los protocolos mencionados más arriba puede ser, por ejemplo, la α-glucosidasa recombinante de *Saccharomyces cerevisiae,* que es una maltasa.

Ejemplo 5: Análisis de inhibición *in vivo* de la actividad de la α-glucosidasa en presencia de los péptidos sintéticos AP y VAP

La actividad inhibidora de los péptidos AP y VAP, y el efecto de los péptidos AP y VAP sobre la respuesta glucémica, se pueden medir con una prueba oral de tolerancia a la maltosa *in vivo* en el ratón db/db que presenta una intolerancia a la glucosa de origen genético.

Los ratones tienen 4 semanas de edad y cada ratón es su propio testigo.

Se ha utilizado una ingestión de maltosa (2 g/kg) para provocar un aumento temporal de la glucemia.

El protocolo experimental

Se han realizado cuatro (4) pruebas orales de tolerancia a la maltosa (2 g/kg) en cada ratón con un intervalo mínimo de 48 h. El orden se determinó para que anulara cualquier posible efecto de confusión debido a una modificación de

la composición corporal de los ratones durante las 3 semanas de estudio.

Los 4 análisis siguientes se han efectuado en un orden aleatorio:

- Control (solución salina del 0,9%);

- Ingestión del péptido AP (500 mg/kg);

- Ingestión del péptido VAP (500 mg/kg);

- Ingestión de los péptidos AP (500 mg/kg) + VAP (500 mg/kg)

La maltosa y los productos problema se han administrado directamente por vía oral (infusión gástrica) y se han diluido en una solución salina al 0,9%.

Extracciones experimentales

Cinco (5) minutos antes de la administración por vía gástrica se ha realizado una primera extracción de sangre en la cola para determinar la glucemia (t = 0); a continuación, se han realizado otras 5 extracciones al cabo de 15, 30, 60, 90 y 120 min.

Criterios de evaluación

- Criterio principal: El criterio de evaluación principal era la medición del área bajo la curva glucémica a lo largo de las 2 h que siguen a la administración de la maltosa (ABC, área bajo la curva, 0 a 120 min, en mg h/dl). Cuando más disminuye el área bajo la curva, más eficaz es el péptido utilizado. El área bajo la curva es la mejor representación de la respuesta glucémica a la carga oral de los glúcidos, ya que tiene en cuenta no solo el nivel máximo de glucemia alcanzando, sino también la cinética de la evolución de la glucemia a lo largo de las 2 h que siguen a la ingestión de los glúcidos.

- Criterios secundarios: Los criterios de evaluación secundarios eran: $C_{máx}$ glucemia (valor máximo medido a lo largo de 120 min); $\Delta C_{máx}$ glucemia ($\Delta C_{máx}$ glucemia = $C_{máx}$ glucemia – valor de la glucemia a t0 = 150), ABC_{neta} (ABC calculada con los valores de la glucemia a los que se ha sustraído el valor a t0). El ABC (área bajo la curva) se ha estimado según el método de los trapecios. Para el ABC_{neta}, el valor de la glucemia basal multiplicado por el tiempo de la medida (2 h) se restó del ABC calculada anteriormente.

La evolución de la glucemia a lo largo de la prueba de tolerancia a la maltosa se presenta en la figura 6. Se representan los valores crudos (es decir, el valor de la dosis directa, por oposición al valor «neto» para lo cual se le resta el valor en reposo). La prueba se ha efectuado con cuatro grupos de 8 ratones y la curva se ha efectuado con la media de los resultados.

Los péptidos AP y VAP, utilizados solos o en combinación, permiten así pues disminuir la glucemia de los ratones analizados.

Los valores máximos de la glucemia a los que se ha restado el valor en reposo a lo largo de la prueba oral de tolerancia a la maltosa se presentan en la figura 7. Por ejemplo, el valor para AP es de aproximadamente 280 mg/dl (430 – 150 = 280, es decir, el valor máximo menos el valor en reposo medido 5 minutos antes de la infusión. Esto permite poner de manifiesto más directamente el impacto de la situación experimental con independencia del valor de la glucemia basal que puede presentar una determinada variabilidad).

Estos valores muestran un impacto significativo del tratamiento con el péptido AP sobre el valor máximo de la glucemia obtenida a lo largo de una prueba de tolerancia a la maltosa.

El impacto significativo del péptido AP se confirma mediante los resultados del ABC que se presentan en la figura 8.

De hecho, el tratamiento con el péptido AP muestra un impacto beneficioso sobre el ABC de la glucosa a lo largo de la prueba oral de tolerancia a la maltosa.

Ejemplo 6: Realización de un hidrolizado de proteínas de lactosuero de leche de cabra con regulación del pH

Fuente de proteínas

Concentrado de proteínas de lactosuero (CPL) aislado a partir de leche de cabra cruda (80% de proteínas)

Enzimas utilizadas

Protamex® (EC número 3.4.21.14):

Es un nombre comercial de la marca Novozymes Corp. La enzima está disponible en Sigma con la referencia P0029.

Se trata de una mezcla de proteasas (la alcalasa de *Bacillus licheniformis* y la neutrasa de *Bacillus amyloquefaciens*).

La actividad de la enzima es de 1,5 U/g de sólido.

Número de lote: 119K1454V.

Flavourzyme®:

Es un nombre comercial de la marca Novozymes Corp. La enzima está disponible en Sigma con la referencia P6110.

Se trata de una mezcla de proteasas/peptidasas de *Aspergillus oryzae*.

La actividad de la enzima es de 500 U/g.

Número de lote: SLBJ3967U.

Endoproteasa específica de prolina:

La enzima la comercializa DSM con la marca Brewers Clarex (la enzima se aísla a partir de *Aspergillus niger*). La enzima está disponible en Sigma con la referencia E1411.

Se trata de una específica de prolina entre las endopeptidasas de *Flavobacterium sp*. Más en concreto, la enzima hidroliza específicamente los enlaces en el extremo carboxilo de las prolinas de la cadena peptídica.

La actividad de la enzima es de 5 U/mg.

Número de lote: SLBD9700V.

Pepsina:

La enzima está disponible en Sigma con la referencia P7000. Se trata de una pepsina de la mucosa gástrica del cerdo.

La actividad de la enzima es de 250 U/mg de sólido.

Número de lote: SLBH3879V.

Las hidrólisis se realizan en una estación pH-Stat 718 Stat Titrino de Metrohm que permite regular la temperatura y el pH, y obtener un seguimiento de las hidrólisis. Esta estación también está equipada con una celda 728 Stirrer de Metrohm que permite una agitación de 200 a 1 900 rpm.

La solución de proteínas del lactosuero de leche de cabra corresponde al 5% de materia seca en agua (lo que corresponde en el ejemplo a 1 500 mg en 30 ml de agua ultrapura).

Se aplica una etapa de desnaturalización por calentamiento de la solución a 80 °C durante 10 min antes de la hidrólisis.

Para detener la reacción de la hidrólisis, la solución se lleva a 90 °C durante 15 min para desnaturalizar las enzimas aún presentes en el medio.

A continuación, el hidrolizado se distribuye en alícuotas y luego se conserva a -20 °C antes de la purificación y de los análisis.

1. Caso de una hidrólisis por una enzima simple: Flavourzyme®

La solución se lleva a una temperatura de 50 °C, el pH se fija a 8,0 mediante la adición de NaOH a 6 M. La hidrólisis comienza durante la adición de 750 µl de Flavouryme® (750 µl/30 ml/1 500 mg de CPL, 5% v/p). El pH se mantiene a un valor de 8 por la adición de NaOH a 0,1 M.

2. Caso de una hidrólisis doble: Protamex® y pepsina

La solución se lleva a una temperatura de 50 °C, el pH se fija a 8,0 mediante la adición de NaOH a 6 M. La hidrólisis comienza durante la adición de 60 mg de Protamex® (60 mg/30 ml/1 500 mg de CPL, 4% p/p). El pH se mantiene a un valor de 8 por la adición de NaOH a 0,1 M.

Cuando se detiene la hidrólisis, el pH se baja a un valor de 2 antes de añadir los 30 mg de pepsina (30 mg/30 ml/1 500 mg de CPL, 2% p/p). La regulación del pH se realiza esta vez por la adición de HCl a 0,1 M.

Ejemplo 7: Realización de un hidrolizado de proteínas de lactosuero de leche de cabra sin regulación del pH

Fuente de las proteínas

Concentrado de proteínas de lactosuero (CPL) aislado a partir de leche de cabra cruda (80% de proteínas).

Enzimas utilizadas

Protamex® (disponible en Sigma con la referencia P0029) (60 mg/30 ml/1 500 mg de CPL, 4% p/p) o Flavourzyme® (disponible en Sigma con la referencia P6110) (750 µl/30 ml/1 500 mg de CPL, 5% v/p).

Las hidrólisis se realizan bien en agua ultrapura, o bien en un tampón de fosfato de potasio a pH 8,0 y de molaridad 50 mM.

La solución de proteínas de lactosuero de leche de cabra corresponde al 5% de materia seca en el tampón o en agua ultrapura.

Antes de la hidrólisis, se aplica una etapa de desnaturalización por calentamiento de la solución a 80 °C durante 10 min.

A continuación, se realiza la hidrólisis sobre soportes Radley Tech Carroussel 6 (se trata de reactores clásicos de la marca Radley) que controlan la temperatura interna de los medios a 50 °C y permite una agitación de 600 rpm.

Para detener la reacción de la hidrólisis, al cabo de 6 h, la solución se lleva a 90 °C durante 15 min para desnaturalizar las enzimas aún presentes en el medio.

A continuación, el hidrolizado se distribuye en alícuotas y luego se conserva a -20 °C antes del fraccionamiento y de los análisis.

Ejemplo 8: Fraccionamiento de los hidrolizados de las proteínas de lactosuero de leche de cabra

Los hidrolizados realizados más arriba (ejemplos 6 y 7) se someten a una serie de fraccionamientos que permiten la concentración de los péptidos con la masa molecular baja deseada.

Una primera etapa de centrifugación contempla la eliminación de las proteínas de alto peso molecular que no se han hidrolizado y que se encuentran en el sedimento.

A continuación, al sobrenadante que contiene las proteínas hidrolizadas se le aplican una serie de ultrafiltraciones sucesivas con el umbral de corte de 30 a 3 kDa. Las ultrafiltraciones se realizan con las unidades de centrifugación de referencia Amicon Ultra de Millipore (2 ml con umbrales de corte de 30 kDa, 10 kDa y 3 kDa). La centrifugadora utilizada es un modelo Fisher Bioblock Scientific Sigma 3-18K - 3-16K.

La metodología utilizada se presenta en la figura 9.

En cada estadio intermedio, una parte de lo permeado, de lo retenido, de los sedimentos y de los sobrenadantes se distribuye en alícuotas y a continuación se liofiliza.

El resultado de una centrifugación es la obtención de dos fracciones: el sedimento (sólido, en el fondo del tubo) y el sobrenadante (fracción líquida).

El resultado de una ultrafiltración es la obtención de un retenido y de un permeado.

Lo retenido es una terminología utilizada para las técnicas de separación con las membranas que describen las partículas retenidas durante una filtración. Lo contrario de lo retenido es lo permeado.

Lo retenido también se denomina no filtrado.

Lo permeado es el líquido del que se han retirado los péptidos con ayuda de una membrana. Lo permeado también se denomina filtrado.

A continuación, las muestras se conservan a -20 °C antes de los análisis.

Ejemplo 9: Determinación del perfil de masas de los hidrolizados de proteínas de lactosuero de leche de cabra

En cada estadio del fraccionamiento, para los hidrolizados realizados más arriba (ejemplos 6 y 7), se ha determinado la cantidad de proteínas restante por el método EABC (ensayo del ácido bicinconínico). Esta cuantificación permite estimar el perfil de masas de los hidrolizados de proteínas.

Reactivos

Los reactivos utilizados son el ácido bicinconínico (disponible en Sigma con la referencia B9643), el sulfato de cobre II (disponible en Sigma con la referencia C2284), SAB (seroalbúmina bovina) (disponible en Sigma con la referencia A7888).

Protocolo

En una microplaca de 96 pocillos, añádanse 200 µl del reactivo de EABC, que corresponde a una mezcla de ácido

bicinconínico:sulfato de cobre (II) con una relación de 25:0,5 (v:v), a 25 µl de la muestra a dosificar.

Con el objeto de determinar la concentración, se realiza una gama de concentraciones conocidas de SAB y se analiza en las concentraciones comprendidas entre 0 y 0,6 mg/ml. Una vez que se ha añadido la muestra, se realiza la reacción durante 30 min a 37 °C, antes de que se haga la lectura de la DO (densidad óptica) a 526 nm.

Los resultados se presentan en la figura 10.

La utilización de Flavourzyme® en vez de Protamex® permite generar una parte más importante de péptidos por debajo de 3 kDa.

Más en concreto, la utilización de Flavourzyme® sin regulación del pH es el procedimiento de hidrólisis que permite obtener, después del fraccionamiento, la cantidad más importante de péptidos con la masa molecular deseada, por debajo de 3 kDa.

Por el contrario, la utilización de un tampón y de la enzima Protamex® permite generar tan solo el 25% de los péptidos por debajo de 3 kDa. Así pues, este protocolo no parece adaptado para la liberación de péptidos de baja masa molecular.

Ejemplo 10: Identificación del péptido AP en los hidrolizados de proteínas de lactosuero de leche de cabra

1. Características del péptido AP sintético por análisis por HPLC-MS

La identificación se realiza mediante una HPLC analítica de Agilent (1100 LC), con ayuda de la columna C18 Prontosil (250 × 4 mm, 2,0 µm) o de una columna Waters Xbridge BEH130 C18 (5 µm, 4,6 × 250 mm) y con el uso de una doble detección: UV a 215 nm y espectrometría de masas (MS-atrapamiento de iones, con ionización de tipo electropulverización en modo barrido positivo).

Las condiciones de la MS son: barrido de 60 a 600 m/z; masa deseada (m/z) de 187, temperatura de la fuente de 300 °C con una carga de 10 l/min de nitrógeno. El gradiente utiliza dos solventes, el solvente A consiste en agua milliQ con TFA (ácido trifluoroacético) al 0,1% y el solvente B que consiste en acetonitrilo con TFA al 0,1%, y comienza al 1% de B para alcanzar el 30% al cabo de 55 min, a continuación el 50% a los 60 min y, finalmente, el 100% a los 65 min, antes de regresar al 1% a los 75 min.

El péptido AP de Genosphere (que tiene una pureza superior al 95%) se analizó para obtener el espectro de masas de referencia, así como el tiempo de retención en UV y en masas.

Cuando se realiza la separación en una columna C18 Prontosil, el péptido puro AP posee un tiempo de retención de 3,4 min y dos picos m/z característicos en su espectro de masas, 187 y 116. El fragmento de 187 corresponde a MH+, el 209 a MNa+ y el 116 a la fragmentación del péptido por la prolina del lado carboxiterminal.

Cuando la separación se realiza en una columna C18 Waters BEH, el péptido puro AP posee un tiempo de retención de 10,5 min y dos picos m/z característicos sobre su espectro de masas, 187 y 116. El fragmento de 187 corresponde a MH+, el 209 a MNa+, el 373 a 2MH+, el 395 a 2MNa+ y el 116 a la fragmentación del péptido por la prolina del lado carboxiterminal.

2. Identificación del péptido AP en un hidrolizado obtenido por Flavourzyme®

Los hidrolizados de los ejemplos 6,1 y 7 realizados con la enzima Flavourzyme® con y sin regulación del pH se analizan por HPLC-MS en la columna C18 Waters BEH, en donde el péptido AP posee un tiempo de retención cercano de 10,5 min. En la figura 11 se presentan el espectro de UV y de masas, así como el cromatograma de iones del extracto (CIE) para una relación masa/carga deseada de 187 (MH+ de AP) de los hidrolizados.

A partir del EIC187, se halla durante la hidrólisis con Flavourzyme® un pico mayoritario que posee un tiempo de retención que corresponde al péptido AP estándar (es decir, la molécula de AP puro de síntesis química) del orden de 11 min, y esto se observa con y sin regulación del pH. El análisis del espectro de masas de este pico hace aparecer los marcadores específicos del péptido AP (m/z = 187; 116; 373), lo que asegura su presencia en estos hidrolizados. El segundo pico presente en el CIE, pero que posee un tiempo de retención del orden de 7 min, corresponde al péptido PA estándar (es decir, la molécula de PA pura de síntesis química). El análisis del espectro de masas de este pico hace aparecer los marcadores específicos del péptido PA (m/z = 187; 90; 373).

Dos péptidos que tienen una masa de 187, el péptido AP buscado así como el péptido PA.

Estos análisis confirman que el protocolo de hidrólisis que utiliza Flavourzyme® con o sin regulación del pH permite liberar el péptido AP a partir del concentrado de proteínas de lactosuero de cabra.

3. Identificación del péptido AP en un hidrolizado obtenido por el par Protamex®/pepsina

El hidrolizado del ejemplo 6.2 se analiza a continuación por HPLC-MS en la columna Prontosil, en donde el péptido

AP presenta un tiempo de retención del orden de 3,5 min. Se determina el cromatograma de iones del extracto para una relación masa/carga deseada de 187 (MH+ de AP) después de la primera etapa de hidrólisis con Protamex® y luego la segunda fase hidrolítica con la pepsina.

Después de la hidrólisis con Protamex®, al pico mayoritario que comprende una m/z de 187 se le encuentra un tiempo de retención del orden de 16 min. Este tiempo de retención corresponde a un péptido con un tamaño mayor. Después de la acción de la pepsina, el péptido AP de masa 187 apareció en el hidrolizado a 3,5 min.

Estos análisis confirman que el protocolo de hidrólisis que utiliza dos preparaciones enzimáticas, Protamex® y luego pepsina, permite liberar el péptido AP a partir del concentrado de proteínas de lactosuero de cabra.

Ejemplo 11: Elección de proteínas para la realización de un hidrolizado que contiene el péptido AP

Todas las proteínas que poseen la secuencia AP (que comprende o está constituida al menos del 0,05% al <5% o al menos al 5% por motivos AP) se pueden utilizar en la invención y, sobre todo, las proteínas con las secuencias que vienen a continuación:

1) Proteínas de la leche (vaca, yegua, oveja)

a) β-lactoglobulina (leche de vaca)

Datos de UniProt: P02754

1 AP, 178 AA, 19 883 Da

MKCLLLALAL TCGAQALIVT QTMKGLDIQK VAGTWYSLAM AASDISLLDA

QS**AP**LRVYVE ELKPTPEGDL EILLQKWENG ECAQKKIIAE KTKIPAVFKI

DALNENKVLV LDTDYKKYLL FCMENSAEPE QSLACQCLVR TPEVDDEALE

KFDKALKALP MHIRLSFNPT QLEEQCHI (SEQ ID NO : 8)

b) α-S1-caseína (leche de vaca)

Datos de UniProt: P02754

2 AP de los que 1 VAP, 214 AA, 24 529 Da

MKLLILTCLV AVALARPKHP IKHQGLPQEV LNENLLRFF**V AP**FPEVFGKE

KVNELSKDIG SESTEDQAME DIKQMEAESI SSSEEIVPNS VEQKHIQKED

VPSERYLGYL EQLLRLKKYK VPQLEIVPNS AEERLHSMKE GIHAQQKEPM

IGVNQELAYF YPELFRQFYQ LDAYPSGAWY YVPLGTQYTD **AP**SFSDIPNP

IGSENSEKTT MPLW (SEQ ID NO : 9)

c) β-caseína (leche de vaca)

Datos de UniProt: P02666

1 AP, 214 AA, 24 529 Da

MKVLILACLV ALALARELEE LNVPGEIVES LSSSEESITR INKKIEKFQS

EEQQQTEDEL QDKIHPFAQT QSLVYPFPGP IPNSLPQNIP PLTQTPVVVP

PFLQPEVMGV SKVKEAM**AP**K HKEMPFPKYP VEPFTESQSL TLTDVENLHL

PLPLLQSWMH QPHQPLPPTV MFPPQSVLSL SQSKVLPVPQ KAVPYPQRDM

PIQAFLLYQE PVLGPVRGPF PIIV (SEQ ID NO : 10)

d) Lactoferrina (leche de vaca)

Datos de UniProt: P24627

5 AP de los que 1 VAP, 708 AA, 78 056 Da

MKLFVPALLS LGALGLCLAA PRKNVRWCTI SQPEWFKCRR WQWRMKKLGA
PSITCVRRAF ALECIRAIAE KKADAVTLDG GMVFEAGRDP YKLRPVAAEI
YGTKESPQTH YYAVAVVKKG SNFQLDQLQG RKSCHTGLGR SAGWIIPMGI
LRPYLSWTES LEPLQGAVAK FFSASCVPCI DRQAYPNLCQ LCKGEGENQC
ACSSREPYFG YSGAFKCLQD GAGDVAFVKE TTVFENLPEK ADRDQYELLC
LNNSRAPVDA FKECHLAQVP SHAVVARSVD GKEDLIWKLL SKAQEKFGKN
KSRSFQLFGS PPGQRDLLFK DSALGFLRIP SKVDSALYLG SRYLTTLKNL
RETAEEVKAR YTRVVWCAVG PEEQKKCQQW SQQSGQNVTC ATASTTDDCI
VLVLKGEADA LNLDGGYIYT AGKCGLVPVL AENRKSSKHS SLDCVLRPTE
GYLAVAVVKK ANEGLTWNSL KDKKSCHTAV DRTAGWNIPM GLIVNQTGSC
AFDEFFSQSC APGADPKSRL CALCAGDDQG LDKCVPNSKE KYYGYTGAFR
CLAEDVGDVA FVKNDTVWEN TNGESTADWA KNLNREDFRL LCLDGTRKPV
TEAQSCHLAV APNHAVVSRS DRAAHVKQVL LHQQALFGKN GKNCPDKFCL
FKSETKNLLF NDNTECLAKL GGRPTYEEYL GTEYVTAIAN LKKCSTSPLL
EACAFLTR (SEQ ID NO : 11)

2) Las proteínas fibrosas (elastina, colágeno, actina)

a) Actina (salmón atlántico)

Datos de UniProt: B5XFZ3

4 AP de los que 1 VAP, 376 AA, 41 584 Da

MVEDEVAALV IDNGSGMCKS GFAGDDAPRA VFPSIVGRPR HVGIMVGMGQ
KDSYVGDEAQ SKRGILSLKY PIDHGIVTNW DDMEKIWHHT FYNELRVAPE
EHPVLLTEAP LNPKNNREKM TQIMFETFNS PAMYVAIQAV LSLYASGRTT
GIVLDSGDGV THTVPIYEGY ALPHAVLRLD LAGRDLTDYL MKVLTERGYS
FTTTAEREIV RDVKEKLCYV ALDYTNELAV AGSSSSLEKS YELPDGQVIT
IGSERFRCPE ALFQPALIGM EAVGIHETAY NSIMKCDVDI RKDLYANTVL
SGGSTMFSGI ADRMQKEVSA LAPTTMKIKI ISPPERKYSV WIGGSILASL
STFQQMWISK MEYDESGPAI VHRKCF (SEQ ID NO : 12)

b) Colágeno α2 (I) (*Oncorhynchus keta*, salmón keta)

Datos de UniProt: Q8UUJ4

8 AP, 1 352 AA, 126 443 Da

MLSFVDNRIL LLLAVTSLLA SCQSGPRGAK GPRGDRGPQG PNGRDGKAGL
PGVAGPPGPP GLGGNFAAQF DGGKGSDPGP GPMGLMGSRG PNGPPGSPGP
QGFTGHAGEP GEPGQTGSIG ARGPTGSAGK PGEDGNNGRP GKPGDRGGPG
TQGARGFPGT PGLPGMKGHR GYNGLDGRKG ESGTAGAKGE TGAHGANGTP
GPAGSRGLNG ERGRAGPAGP AGARGADGST GPAGPAGPLG AAGPPGFPGA
PGPKGEIGGA GSNGPSGPQG GRGEPGINGA VGPVGPVGNP GNNGINGAKG

AAGLPGVAG**A P**GFPGPRGGP GPQGPQGSTG ARGLGGDPGP SGQKGDSGAK
GEPGHSGVQG AAGPAGEEGK RGSTGEAGAT GPAGLRGARG GAGTRGLPGL
EGRGGPIGMP GARGATGPAG IRG**AP**GDAGR AGESGLTGAR GLPGNSGQGG
PPGKEGPSGA AGLDGRTGPP GPTGPRGQPG NIGFPGPKGP GGEAGKGGDK
GPTGATGLRG GPGADGNNG**A P**GPAGVVGNA GEKGEQGPSG **AP**GFQGLPGP
AGPAGEAGKA GNQGMPGDQG LPGPAGVKGE RGNSGPAGSA GSQGAIGARG
PAGTPGPDGG KGEPGSVGIV GAAGHQGPGG MPGERGAGGT PGPKGEKGEG
GHRGLEGNMG RDGARGAAGP SGPPGPSGAN GEKGESGSFG PAGPAGLRGP
SGERGEGGPA GPPGFAGPPG SDGQSGPRGE KGPAGGKGDV GPAGPAGPSG
QSGPSGASGP AGPPGGRGDA GPSGLTGFPG AAGRVGGPGP AGISGPPGSA
GPAGKDGPRG LRGDAGPGGP QGEQGVVGPA GIAGDKGPSG EGGPPG**AP**GT
AGPQGVLGPS GFVGLPGSRG DKGLPGGPGA VGEPGRLGPA GASGPRGPSG
NIGMPGMTGT QGEAGREGNS GNDGPPGRPG AAGFKGDRGE PGSPGALGSS
GQPGPNGPAG SAGRPGNRGE SGPTGNGGPV GAAGARG**AP**G PAGPRGEKGG
AGEKGDRGMK GLRGHGGLQG MPGPNGPSGE TGSAGITGPA GPRGPAGPHG
PPGKDGRAGG HGAIGPVGHR GPPGHLGPAG PPGSPGLPGP AGPAGGGYDQ
SGGYDEYRAD QPSLRAKDYE VDATIKSLNS QIENLLTPEG SKKNPARTCR
DIRLSHPEWS SGFYWIGPNQ GCIADAIKAY CDFSTGHTCI HPHPESIARK
NWYRSSENKK HVWFGETING GTEFAYNDET LSPQSMATQL AFMRLLANQA
TQNITYHCKN SVAYMDGENG NLKKAVLLQG SNDVELRAEG NSRFTFNVLE
DGCTRHTGQW SKTVIEYRTN KPSRLPILDI **AP**LDIGEADQ EFGLDIGPVC
FK (SEQ ID NO : 13)

c) Cadena de colágeno α1 (II) (bovino)

Datos de UniProt: P02459

21 AP, 1 487 AA, 141 828 Da

QMAGGFDEK AGGAQMGVMQ GPMGPMGPRG PPGPAG**AP**GP QGFQGNPGEP
GEPGVSGPMGPRGPPGPPGK PGDDGEAGKP GKSGERGPPG PQGARGFPGT
PGLPGVKGHR GYPGLDGAKGEAG**AP**GVKGE SGSPGENGSP GPMGPRGLPG
ERGRTGPAGA AGARGNDGQP GPAGPPGPVGPAGGPGFPG**A P**GAKGEAGPT
GARGPEGAQG PRGEPGTPGS PGPAGAAGNP GTDGIPGAKGSAG**AP**GIAG**A**
PGFPGPRGPP GPQGATGPLG PKGQTGEPGI AGFKGEQGPK GEPGPAGPQG

APGPAGEEGK RGARGEPGGA GPAGPPGERG **AP**GNRGFPGQ DGLAGPKG**AP**
GERGPSGLAGPKGANGDPGR PGEPGLPGAR GLTGRPGDAG PQGKVGPSG**A**
PGEDGRPGPP GPQGARGQPGVMGFPGPKGA NGEPGKAGEK GLPG**AP**GLRG
LPGKDGETGA AGPPGPAGPA GERGEQG**AP**GPSGFGGLPGP PGPPGEGGKP
GDGGVPGEAG **AP**GLVGPRGE RGFPGERGSPGSQGLQGARGLPGTPGTDGP
KGAAGPAGPP GAQGPPGLQG MPGERGAAGI AGPKGDRGDV GEKGPEG**AP**G
KDGGRGLTGP IGPPGPAGAN GEKGEVGPPG PAGTAGARG**A P**GERGETGPP
GPAGFAGPPGADGQPGAKGE QGEAGQKGDA G**AP**GPQGPSG **AP**GPQGPTGV
TGPKGARGAQGPPGATGFPGAAGRVGPPGS NGNPGPPGPP GPSGKDGPKG
ARGDSGPPGR AGDPGLQGPA GPPGEKGEPGDDGPSGPDGP PGPQGLAGQR
GIVGLPGQRG ERGFPGLPGP SGEPGKQG**AP** GASGDRGPPGPVGPPGLTGP
AGEPGREGSP GADGPPGRDG AAGVKGDRGE TGAVG**AP**G**AP** GPPGSPGPAG
PIGKQGDRGE AGAQGPMGPA GPAGARGMPG PQGPRGDKGE TGEAGERGLK
GHRGFTGLQGLPGPPGPSGD QGASGPAGPS GPRGPPGPVG PSGKDGANGI
PGPIGPPGPR GRSGETGPAGPPGNPGPPGP PGPPGPGIDM SAFAGLGQRE
KGPDPLQYMR ADEAAGNLRQ HDAEVDATLKSLNNQIESLR SPEGSRKNPA
RTCRDLKLCH PEWKSGDYWI DPNQGCTLDA MKVFCNMETGETCVYPNPAS
VPKKNWWSSK SKDKKHIWFG ETINGGFHFS YGDDNL**AP**NT ANVQMTFLRL
LSTEGSQNIT YHCKNSIAYL DEAAGNLKKA LLIQGSNDVE IRAEGNSRFT
YTVLKDGCTKHTGKWGKTMI EYRSQKTSRL PIIDI**AP**MDI GGPEQEFGVD IGPVCFL
(SEQ ID NO : 14)

d) Elastina (bovina)

Datos de UniProt: F1NOH9

9 AP de los que 2 VAP, 805 AA, 72 317 Da

MAGLTAAARR PGVLLLLLCI LQPSQPGGVP GAVPGGVPGG VFFPGAGLGG
LGVGALGPGV KPAKPGVGGL AGPGLGAGLG ALPGAFPGAL VPGGPAGAAA
AYKAAAKAGA AGLGVGGIGG VGGLGVSTGA VVPQLGAGVG AGVKPGKVPG
VGLPGVYPGG VLPGAGARFP GIGVLPGVPT GAGVKPK**AP**G GGGAFAGIPG
VGPFGGQQPG VPLGYPIK**AP** KLPGGYGLPY STGKLPYGFG PGGVAGAAGK
AGYPTGTGVG PQAAAAAAKA AAKLGAGGAG VLPGVGVGGA GIPG**AP**GAIP

GIGGIAGVG**A P**DAAAAAAAA AKAAKFGAAG GFPGVGVPGV GVPGVGVPGV
GVPGVGVPGV GVPGVGVPGV GVPGVGVPGV GVPGVGVPGA VSPAAAAKAA
AKAAKFGARG GVGVGGIPTF GVGPGGFPGI GDAAAAQAAA AAKAAKIGAG
GVGALGGLVP G**AP**GAIPGVP GVGGVPGVGI PAAAAAKAAA KAAQFGLGPG
VG**VAP**GVGVV PGVGVVPGVG **VAP**GIGLGPG GVIGAGVPAA AKSAAKAAAK
AQFRAAAGLP AGVPGLGVGV GVPGLGVGVG VPGLGVGAGV PGLGAVPGTL
AAAKAAKFGP GGVGALGGVG DLGGAGIPGG VAGVGPAAAA AAAKAAVQLV
PKHRNPHAGL GHTISWPPWP PFPRPIAVPY VRRLPPPPYW EQPSCSCGIH
PPICPSVRPS LSWFGRP**AP**L AGW**AP**PPSTW LTCHGSLGPA STPSHTPLRR
GPEPLGVKSC TSWGRRNLRP NLDLPPRSTV SPSPPRATVL QSISPPPRPS
LCVSL (SEQ ID NO : 15)

3) Las proteínas de huevo

a) Ovotransferrina (huevo de gallina)

Datos de UniProt: P02789

5 AP, 705 AA, 75 828 Da

MKLILCTVLS LGIAAVCFA**A P**PKSVIRWCT ISSPEEKKCN NLRDLTQQER
ISLTCVQKAT YLDCIKAIAN NEADAISLDG GQAFEAGL**AP** YKLKPIAAEV
YEHTEGSTTS YYAVAVVKKG TEFTVNDLQG KTSCHTGLGR SAGWNIPIGT
LLHRGAIEWE GIESGSVEQA VAKFFSASCV PGATIEQKLC RQCKGDPKTK
CARN**AP**YSGY SGAFHCLKDG KGDVAFVKHT TVNEN**AP**DQK DEYELLCLDG
SRQPVDNYKT CNWARVAAHA VVARDDNKVE DIWSFLSKAQ SDFGVDTKSD
FHLFGPPGKK DPVLKDLLFK DSAIMLKRVP SLMDSQLYLG FEYYSAIQSM
RKDQLTPSPR ENRIQWCAVG KDEKSKCDRW SVVSNGDVEC TVVDETKDCI
IKIMKGEADA VALDGGLVYT AGVCGLVPVM AERYDDESQC SKTDERPASY
FAVAVARKDS NVNWNNLKGK KSCHTAVGRT AGWVIPMGLI HNRTGTCNFD
EYFSEGC**AP**G SPPNSRLCQL CQGSGGIPPE KCVASSHEKY FGYTGALRCL
VEKGDVAFIQ HSTVEENTGG KNKADWAKNL QMDDFELLCT DGRRANVMDY
RECNLAEVPT HAVVVRPEKA NKIRDLLERQ EKRFGVNGSE KSKFMMFESQ
NKDLLFKDLT KCLFKVREGT TYKEFLGDKF YTVISSLKTC NPSDILQMCS
FLEGK (SEQ ID NO : 16)

4) Las proteínas vegetales

a) Legumina A (*Pisum sativum*, proteínas de guisante)

Datos de UniProt: P02857

1 AP, 517 AA, 58 805 Da

MAKLLALSLS FCFLLLGGCF ALREQPQQNE CQLERLDALE PDNRIESEGG
LIETWNPNNK QFRCAGVALS RATLQRNALR RPYYSN**AP**QE IFIQQGNGYF
GMVFPGCPET FEEPQESEQG EGRRYRDRHQ KVNRFREGDI IAVPTGIVFW
MYNDQDTPVI AVSLTDIRSS NNQLDQMPRR FYLAGNHEQE FLQYQHQQGG
KQEQENEGNN IFSGFKRDYL EDAFNVNRHI VDRLQGRNED EEKGAIVKVK
GGLSIISPPE KQARHQRGSR QEEDEDEEKQ PRHQRGSRQE EEEDEDEERQ
PRHQRRRGEE EEEDKKERGG SQKGKSRRQG DNGLEETVCT AKLRLNIGPS
SSPDIYNPEA GRIKTVTSLD LPVLRWLKLS AEHGSLHKNA MFVPHYNLNA
NSIIYALKGR ARLQVVNCNG NTVFDGELEA GRALTVPQNY AVAAKSLSDR
FSYVAFKTND RAGIARLAGT SSVINNLPLD VVAATFNLQR NEARQLKSNN
PFKFLVPARE SENRASA (SEQ ID NO : 17)

Ejemplo 12: Realización de un hidrolizado de proteínas de guisante, de gelatina de pescado y de gelatina de buey con Flavourzyme®

Fuentes de las proteínas

Proteínas de guisante (disponible en Nutralis de Roquette), gelatina de pescado (disponible en Sigma), gelatina de buey (disponible en Sigma).

Enzimas utilizadas:

Flavourzyme® (disponible en Sigma con la referencia P6110) (750 µl/30 ml/1 500 mg de CPL, 5% v/p).

Se aplica una etapa de desnaturalización por calentamiento de una solución de proteínas (5% de materia seca en agua ultrapura) a 80 °C durante 10 min antes de la hidrólisis.

La hidrólisis enzimática por Flavourzyme® se realiza a continuación sobre los soportes Radley Tech Carroussel 6 que controlan la temperatura interna de los medios a 50 °C y permiten una agitación de 600 rpm.

Para detener la reacción al cabo de 6 h, la solución se lleva a 90 °C durante 15 min con el fin de desnaturalizar las enzimas que sigan presentes en el medio. A continuación, el hidrolizado se distribuye en alícuotas y luego se conserva a -20 °C antes del fraccionamiento y de los análisis.

Los hidrolizados realizados por la enzima Flavourzyme® se analizan por HPLC-MS en la columna C18 Waters BEH.

En la figura 11 se presenta el cromatograma de HPLC-MS obtenido con una detección de UV a 215 nm (A), con una detección de la masa de iones totales (B), con una detección de la masa selectiva del ion m/z 187 característico de AP y PA (C).

Ejemplo 13: Acción hipotética de una proteasa de tipo termolisina sobre las proteínas que contienen los motivos AP y/o VAP

1) Acción de la termolisina sobre la β-lactoglobulina (leche de vaca) P02754

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 3 que viene a continuación.

m/z (mi)	**Secuencia**	**m/z (mi)**	**Secuencia**
187,1077	AP	231,1703	VL
189,1234	AV	231,1703	LV
203,1390	AL	237,0904	AM
203,1390	LA	237,0904	MA
218,1135	AQ	245,1860	LL
219,1339	IS	245,1860	LI
219,1339	LS	245,1860	IL

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
221,0954	AM	245,1860	II
221,0954	MA	247,1288	LD
229,1547	IP	247,1288	ID
229,1547	LP	248,1241	AGT

2) Acción de la termolisina sobre la α-S1-caseína (leche de vaca) P02754

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 4 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
187,1077	AP	203,1390	LA
189,1234	VA	215,1390	VP
189,1234	AV	231,1703	LV
189,1234	LG	245,1860	LL
189,1234	IG	245,1860	LI
189,1234	MK	247,1111	MP
203,1390	AL	247,1288	LD

3) Acción de la termolisina sobre la β-caseína (leche de vaca) P02666

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 5 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
189,1234	VA	219,1339	LS	237,0904	AM
189,1234	MK	221,0954	AM	237,1234	AF
193,0641	AC	223,0747	MG	245,1860	LI
203,1390	AL	229,1547	LP	245,1860	IL
203,1390	LA	231,1703	VL	245,1860	LL
207,0798	MG	231,1703	LV	245,1860	II
215,1390	VP	231,1703	IV	246,1448	LN
217,1547	VV	233,1496	LT	246,1812	MKV
247,1111	MP	249,1267	VM		

4) Acción de la termolisina sobre la lactoferrina (leche de vaca) P24627

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 6 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
187,1077	AP	229,1547	IP	245,1860	LL
189,1234	VA	231,1703	VL	246,1448	LN
189,1234	AV	231,1703	IV	246,1561	AR
189,1234	LG	231,1703	LV	246,1812	VK

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
189,1234	MK	233,1132	VD	249,1267	MV
191,1026	AT	233,1496	LT	223,0747	MG
193,0641	AC	235,1111	LC	223,1077	FG
203,1390	AL	237,1234	AF	227,1139	AH
203,1390	AI	237,1234	FA	207,0798	MG
203,1390	LA	239,1026	YG	215,1390	VP
204,0979	AN	244,1292	APG	217,1547	VV
205,0819	AD	245,1860	LI	227,1139	AH
218,1135	AQ	246,1812	VK	219,1339	LS
218,1499	AK	249,1267	MV	223,1077	FG
219,0975	AE	223,0747	MG	219,1339	VT

5) Acción de la termolisina sobre la actina (salmón atlántico) B5XFZ3

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 7 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
161,0921	AA	215,1390	VP
175,1077	VG	219,1339	LS
177,0870	AS	221,0954	AM
187,1077	AP	231,1703	VL
189,1234	VA	231,1703	LV
189,1234	AV	231,1703	IV
189,1234	IG	233,1132	VD
203,1390	AL	233,1496	IT
203,1390	AI	235,1111	LC
203,1390	LA	245,1860	IL
205,1183	VS	246,1448	AVG
215,1390	VP	247,1288	LD

6) Acción de la termolisina sobre el colágeno α2 (I) (*Oncorhynchus keta*, salmon keta) Q8UUJ4

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 8 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
175,1077	VG	223,1077	FG
187,1077	AP	229,1547	LP
189,1234	VA	231,1703	VL
189,1234	AV	233,1132	VD
189,1234	IG	233,1496	IT

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
189,1234	LG	234,1084	AGS
191,1026	AT	237,1234	FA
203,1390	LA	237,1234	AF
205,0819	AD	244,1292	AGP
207,0798	MG	244,1292	APG
218,1135	AQ	245,1860	IL
218,1135	AAG	245,1860	LL
219,1339	MLS	246,1448	VAG
219,1339	LS	246,1448	AGV
221,0954	VC	246,1448	VGA
247,1288	LD	246,1448	IGG
248,1241	ATG	247,1288	VE

7) Acción de la termolisina sobre la cadena del colágeno α1 (II) (bovino) P02459

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 9 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
175,1077	VG	229,1547	LP
177,0870	AS	233,1132	VD
187,1077	AP	233,1496	IT
191,1026	AT	237,0904	MS
203,1390	AL	237,1234	AF
203,1390	IA	244,1292	APG
204,0979	AGG	244,1292	AGP
204,0979	AN	245,1860	LL
207,0798	MG	246,1448	AVG
218,1135	AQ	246,1448	VQ
218,1135	AGA	247,1288	VE
218,1135	AAG	247,1288	ID
218,1135	AGA	247,1288	LD
219,0975	AE	247,1288	ID
221,0954	VC	248,1241	AGT
223,0747	MG	248,1241	ATG
223,1077	FG		

8) Acción de la termolisina sobre la elastina (bovina) F1NOH9

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 10 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
161,0921	AA	223,1077	FG
175,1077	VG	229,1547	LP
187,1077	AP	229,1547	IP
189,0870	MAG	231,1703	VL
189,1234	AV	232,1292	VGG
189,1234	LG	233,1496	LT
189,1234	IG	235,1111	LC
191,1026	AT	237,1234	AF
203,1390	AL	239,1026	YG
203,1390	LA	244,1292	APG
203,1390	IA	245,1860	LL
204,0979	AGG	246,1448	VGA
205,1183	VS	246,1448	VAG
215,1390	VP	246,1448	AGV
218,1135	AGA	246,1448	VQ
218,1135	AAG	246,1448	LGG
218,1135	AQ	246,1448	IGG
218,1499	AK	246,1561	AR
219,1339	IS	247,1288	LD
219,1339	LS		

9) Acción de la termolisina sobre la ovotransferrina (huevo de gallina) P02789

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 11 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
161,0921	AA	219,0975	AE
177,0870	AS	219,1339	LS
187,1077	AP	219,1339	IS
189,1234	AV	221,0954	VC
189,1234	VA	223,0747	MG
189,1234	LG	223,1077	FG
189,1234	MK	227,1139	AH
191,1026	AT	229,1547	IP
203,1390	AI	231,1703	LV
203,1390	IA	232,1292	VN
204,0979	AN	235,1111	LC
205,0819	AD	237,1234	FA

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
207,0798	MG	237,1234	AF
215,1390	VP	237,1234	FA
217,1547	VV	245,1860	LI
218,1499	AK	245,1860	LL
249,1267	VM	246,1561	AR
219,1339	LS	249,1267	VM

10) Acción de la termolisina sobre la legumina A (*Pisum sativum*, proteínas de guisante) P02857

Los resultados de la búsqueda de péptidos entre 150 y 250 Da se presentan en la tabla 12 que viene a continuación.

m/z (mi)	Secuencia	m/z (mi)	Secuencia
177,0870	AS	229,1547	LP
189,1234	VA	231,1703	VI
189,1234	AV	231,1703	IV
191,1026	AT	233,1496	LT
203,1390	AI	237,0904	AM
203,1390	LA	237,1234	FA
203,1390	IA	245,1860	LL
205,1183	VS	245,1860	II
215,1390	VP	246,1448	AGV
217,1547	VV	246,1448	LN
218,1499	MAK	246,1561	AR
218,1499	AK	246,1812	VK
219,1339	LS	247,1288	LD
221,0954	AM	248,1241	ASA
223,1077	FG	249,1267	MV

Ejemplo 14: Determinación *in vitro* de la inhibición de la DPP-IV (DiPeptidilPeptidasa-IV) ejercida por los péptidos sintéticos

La actividad inhibidora que tienen los péptidos sintéticos se puede medir *in vitro* según el protocolo siguiente: 25 µl del sustrato Gly-L-Prp-p-nitroanilida a 1,6 mM en el tampón de Tris-HCl a 0,1 M (pH 8,0) se mezclan con 25 µl de la muestra de péptido o de inhibidor de referencia a diferentes concentraciones. Las muestras vienen solubilizadas en el tampón de Tris-HCl (pH 8,0).

Después de una incubación previa a 37 °C durante 10 min, a la mezcla se le añaden 50 µl de la enzima DPP-IV a una concentración de 0,01 U/ml en el tampón de Tris-HCl a 0,1 M (pH 8,0) para iniciar la reacción. El medio de reacción se incuba durante 60 min a 37 °C antes de que la reacción se detenga por la adición de 100 µl del tampón de acetato de sodio (pH 4) a 1 M.

La cantidad de producto formado (p-nitroanilida) se mide mediante la lectura de la absorbancia a 385 nm con el uso del espectrofotómetro Fluostar Omega (BMG Labtech, Alemania).

Todas los análisis de inhibición se realizan por triplicado.

El sustrato utilizado es el hidrocloruro de Gly-L-Pro-p-nitroanilida (disponible en Sigma con la referencia G0513).

La enzima utilizada es la DPP-IV de riñón de cerdo (disponible en Sigma con la referencia D7052).

El inhibidor de referencia es la diprotina A, que corresponde al tripéptido Ile-Pro-Ile (disponible en Sigma con la referencia I9759).

Los resultados de la CI_{50} de los péptidos sobre la actividad inhibidora de la DPP-IV analizada *in vitro* se presentan en la tabla 13 que viene a continuación.

Péptidos	**(CI_{50}) en mmol/l**
Diprotina A (IPI)	**0,0121 ± 0,0002**
SAPLRVY (SEQ ID N.º 3)	1,056 ± 0,031
VAPFPEV (SEQ ID N.º 4)	1,184 ± 0,008
GPL	1,853 ± 0,298
VAPG (SEQ ID N.º 6)	2,271 ± 0,131
AP	**4,775 ± 0,284**
VAP	**4,817 ± 2,303**
AVPYQR (SEQ ID N.º 5)	5,701 ± 0,080
VGVAPG (SEQ ID N.º 7)	10,732 ± 0,769
KY	Ninguna inhibición
VW	Ninguna inhibición
VY	Ninguna inhibición
AVIPIPT	Ninguna inhibición

Los resultados confirman que los péptidos utilizados inhiben débilmente la DPP-IV con respecto a la referencia que es la diprotina A, un conocido inhibidor de la DPP-IV. En particular, los péptidos AP y VAP inhiben muy débilmente la DPP-IV con respecto a la referencia de diprotina A.

Lista de secuencias

<110> UNIVERSIDAD DE LA ROCHELLE
UNIVERSIDAD BLAISE PASCAL-CLERMONT II

<120> COMPOSICIONES PARA LA PREVENCIÓN Y/O EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA α-GLUCOSIDASA

<130> WOB 14 AF SGC APVA

<150> FR14/51280
<151> 2014-02-18

<160> 17

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 1
Ala Pro Phe Pro Glu
1 5

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 2
Ala Pro Phe Pro Glu Val Phe
1 5

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 3
Ser Ala Pro Leu Arg Val Tyr
1 5

<210> 4
<211> 7
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 4
Val Ala Pro Phe Pro Glu Val
1 5

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 5
Ala Val Pro Tyr Gln Arg
1 5

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 6
Val Ala Pro Gly
1

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> péptido sintético

<400> 7
Val Gly Val Ala Pro Gly
1 5

<210> 8
<211> 178
<212> PRT
<213> *Bos taurus*

<400> 8

```
Met Lys Cys Leu Leu Leu Ala Leu Ala Leu Thr Cys Gly Ala Gln Ala
1               5                  10                  15

Leu Ile Val Thr Gln Thr Met Lys Gly Leu Asp Ile Gln Lys Val Ala
            20                  25                  30

Gly Thr Trp Tyr Ser Leu Ala Met Ala Ala Ser Asp Ile Ser Leu Leu
        35                  40                  45

Asp Ala Gln Ser Ala Pro Leu Arg Val Tyr Val Glu Glu Leu Lys Pro
    50                  55                  60

Thr Pro Glu Gly Asp Leu Glu Ile Leu Leu Gln Lys Trp Glu Asn Gly
65                  70                  75                  80

Glu Cys Ala Gln Lys Lys Ile Ile Ala Glu Lys Thr Lys Ile Pro Ala
                85                  90                  95

Val Phe Lys Ile Asp Ala Leu Asn Glu Asn Lys Val Leu Val Leu Asp
            100                 105                 110

Thr Asp Tyr Lys Lys Tyr Leu Leu Phe Cys Met Glu Asn Ser Ala Glu
        115                 120                 125

Pro Glu Gln Ser Leu Ala Cys Gln Cys Leu Val Arg Thr Pro Glu Val
    130                 135                 140

Asp Asp Glu Ala Leu Glu Lys Phe Asp Lys Ala Leu Lys Ala Leu Pro
145                 150                 155                 160

Met His Ile Arg Leu Ser Phe Asn Pro Thr Gln Leu Glu Glu Gln Cys
                165                 170                 175

His Ile
```

<210> 9
<211> 214
<212> PRT
<213> *Bos taurus*

<400> 9

```
Met Lys Leu Leu Ile Leu Thr Cys Leu Val Ala Val Ala Leu Ala Arg
1               5                  10                  15

Pro Lys His Pro Ile Lys His Gln Gly Leu Pro Gln Glu Val Leu Asn
            20                  25                  30

Glu Asn Leu Leu Arg Phe Phe Val Ala Pro Phe Pro Glu Val Phe Gly
        35                  40                  45

Lys Glu Lys Val Asn Glu Leu Ser Lys Asp Ile Gly Ser Glu Ser Thr
    50                  55                  60

Glu Asp Gln Ala Met Glu Asp Ile Lys Gln Met Glu Ala Glu Ser Ile
65                  70                  75                  80

Ser Ser Ser Glu Glu Ile Val Pro Asn Ser Val Glu Gln Lys His Ile
                85                  90                  95

Gln Lys Glu Asp Val Pro Ser Glu Arg Tyr Leu Gly Tyr Leu Glu Gln
            100                 105                 110

Leu Leu Arg Leu Lys Lys Tyr Lys Val Pro Gln Leu Glu Ile Val Pro
        115                 120                 125

Asn Ser Ala Glu Glu Arg Leu His Ser Met Lys Glu Gly Ile His Ala
    130                 135                 140

Gln Gln Lys Glu Pro Met Ile Gly Val Asn Gln Glu Leu Ala Tyr Phe
145                 150                 155                 160

Tyr Pro Glu Leu Phe Arg Gln Phe Tyr Gln Leu Asp Ala Tyr Pro Ser
                165                 170                 175

Gly Ala Trp Tyr Tyr Val Pro Leu Gly Thr Gln Tyr Thr Asp Ala Pro
            180                 185                 190

Ser Phe Ser Asp Ile Pro Asn Pro Ile Gly Ser Glu Asn Ser Glu Lys
        195                 200                 205

Thr Thr Met Pro Leu Trp
    210
```

<210> 10
<211> 224
<212> PRT
<213> *Bos taurus*

<400> 10

```
Met Lys Val Leu Ile Leu Ala Cys Leu Val Ala Leu Ala Leu Ala Arg
1               5                  10                  15

Glu Leu Glu Glu Leu Asn Val Pro Gly Glu Ile Val Glu Ser Leu Ser
            20                  25                  30

Ser Ser Glu Glu Ser Ile Thr Arg Ile Asn Lys Lys Ile Glu Lys Phe
        35                  40                  45

Gln Ser Glu Glu Gln Gln Gln Thr Glu Asp Glu Leu Gln Asp Lys Ile
    50                  55                  60

His Pro Phe Ala Gln Thr Gln Ser Leu Val Tyr Pro Phe Pro Gly Pro
65                  70                  75                  80

Ile Pro Asn Ser Leu Pro Gln Asn Ile Pro Pro Leu Thr Gln Thr Pro
                85                  90                  95

Val Val Val Pro Pro Phe Leu Gln Pro Glu Val Met Gly Val Ser Lys
            100                 105                 110

Val Lys Glu Ala Met Ala Pro Lys His Lys Glu Met Pro Phe Pro Lys
        115                 120                 125

Tyr Pro Val Glu Pro Phe Thr Glu Ser Gln Ser Leu Thr Leu Thr Asp
    130                 135                 140

Val Glu Asn Leu His Leu Pro Leu Pro Leu Leu Gln Ser Trp Met His
145                 150                 155                 160

Gln Pro His Gln Pro Leu Pro Pro Thr Val Met Phe Pro Pro Gln Ser
                165                 170                 175

Val Leu Ser Leu Ser Gln Ser Lys Val Leu Pro Val Pro Gln Lys Ala
            180                 185                 190

Val Pro Tyr Pro Gln Arg Asp Met Pro Ile Gln Ala Phe Leu Leu Tyr
        195                 200                 205

Gln Glu Pro Val Leu Gly Pro Val Arg Gly Pro Phe Pro Ile Ile Val
    210                 215                 220
```

<210> 11
<211> 708
<212> PRT
<213> *Bos taurus*

<400> 11

```
Met Lys Leu Phe Val Pro Ala Leu Leu Ser Leu Gly Ala Leu Gly Leu
1               5                   10                  15

Cys Leu Ala Ala Pro Arg Lys Asn Val Arg Trp Cys Thr Ile Ser Gln
            20                  25                  30

Pro Glu Trp Phe Lys Cys Arg Arg Trp Gln Trp Arg Met Lys Lys Leu
        35                  40                  45

Gly Ala Pro Ser Ile Thr Cys Val Arg Arg Ala Phe Ala Leu Glu Cys
    50                  55                  60

Ile Arg Ala Ile Ala Glu Lys Lys Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp Gly
65                  70                  75                  80

Gly Met Val Phe Glu Ala Gly Arg Asp Pro Tyr Lys Leu Arg Pro Val
                85                  90                  95

Ala Ala Glu Ile Tyr Gly Thr Lys Glu Ser Pro Gln Thr His Tyr Tyr
            100                 105                 110

Ala Val Ala Val Val Lys Lys Gly Ser Asn Phe Gln Leu Asp Gln Leu
        115                 120                 125

Gln Gly Arg Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
```

```
    130                 135                 140

Ile Ile Pro Met Gly Ile Leu Arg Pro Tyr Leu Ser Trp Thr Glu Ser
145                 150                 155                 160

Leu Glu Pro Leu Gln Gly Ala Val Ala Lys Phe Phe Ser Ala Ser Cys
                165                 170                 175

Val Pro Cys Ile Asp Arg Gln Ala Tyr Pro Asn Leu Cys Gln Leu Cys
            180                 185                 190

Lys Gly Glu Gly Glu Asn Gln Cys Ala Cys Ser Ser Arg Glu Pro Tyr
        195                 200                 205

Phe Gly Tyr Ser Gly Ala Phe Lys Cys Leu Gln Asp Gly Ala Gly Asp
    210                 215                 220

Val Ala Phe Val Lys Glu Thr Thr Val Phe Glu Asn Leu Pro Glu Lys
225                 230                 235                 240

Ala Asp Arg Asp Gln Tyr Glu Leu Leu Cys Leu Asn Asn Ser Arg Ala
                245                 250                 255

Pro Val Asp Ala Phe Lys Glu Cys His Leu Ala Gln Val Pro Ser His
            260                 265                 270

Ala Val Val Ala Arg Ser Val Asp Gly Lys Glu Asp Leu Ile Trp Lys
        275                 280                 285

Leu Leu Ser Lys Ala Gln Glu Lys Phe Gly Lys Asn Lys Ser Arg Ser
    290                 295                 300

Phe Gln Leu Phe Gly Ser Pro Pro Gly Gln Arg Asp Leu Leu Phe Lys
305                 310                 315                 320

Asp Ser Ala Leu Gly Phe Leu Arg Ile Pro Ser Lys Val Asp Ser Ala
                325                 330                 335

Leu Tyr Leu Gly Ser Arg Tyr Leu Thr Thr Leu Lys Asn Leu Arg Glu
            340                 345                 350

Thr Ala Glu Glu Val Lys Ala Arg Tyr Thr Arg Val Val Trp Cys Ala
        355                 360                 365

Val Gly Pro Glu Glu Gln Lys Lys Cys Gln Gln Trp Ser Gln Gln Ser
    370                 375                 380
```

```
Gly Gln Asn Val Thr Cys Ala Thr Ala Ser Thr Thr Asp Asp Cys Ile
385                 390                 395                 400

Val Leu Val Leu Lys Gly Glu Ala Asp Ala Leu Asn Leu Asp Gly Gly
                405                 410                 415

Tyr Ile Tyr Thr Ala Gly Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu
            420                 425                 430

Asn Arg Lys Ser Ser Lys His Ser Ser Leu Asp Cys Val Leu Arg Pro
        435                 440                 445

Thr Glu Gly Tyr Leu Ala Val Ala Val Val Lys Lys Ala Asn Glu Gly
    450                 455                 460

Leu Thr Trp Asn Ser Leu Lys Asp Lys Lys Ser Cys His Thr Ala Val
465                 470                 475                 480

Asp Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met Gly Leu Ile Val Asn Gln
                485                 490                 495

Thr Gly Ser Cys Ala Phe Asp Glu Phe Phe Ser Gln Ser Cys Ala Pro
            500                 505                 510

Gly Ala Asp Pro Lys Ser Arg Leu Cys Ala Leu Cys Ala Gly Asp Asp
        515                 520                 525

Gln Gly Leu Asp Lys Cys Val Pro Asn Ser Lys Glu Lys Tyr Tyr Gly
    530                 535                 540

Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Ala Glu Asp Val Gly Asp Val Ala
545                 550                 555                 560

Phe Val Lys Asn Asp Thr Val Trp Glu Asn Thr Asn Gly Glu Ser Thr
                565                 570                 575

Ala Asp Trp Ala Lys Asn Leu Asn Arg Glu Asp Phe Arg Leu Leu Cys
            580                 585                 590

Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Thr Glu Ala Gln Ser Cys His Leu
        595                 600                 605

Ala Val Ala Pro Asn His Ala Val Val Ser Arg Ser Asp Arg Ala Ala
    610                 615                 620

His Val Lys Gln Val Leu Leu His Gln Gln Ala Leu Phe Gly Lys Asn
625                 630                 635                 640
```

```
Gly Lys Asn Cys Pro Asp Lys Phe Cys Leu Phe Lys Ser Glu Thr Lys
                645                 650                 655

Asn Leu Leu Phe Asn Asp Asn Thr Glu Cys Leu Ala Lys Leu Gly Gly
            660                 665                 670

Arg Pro Thr Tyr Glu Glu Tyr Leu Gly Thr Glu Tyr Val Thr Ala Ile
        675                 680                 685

Ala Asn Leu Lys Lys Cys Ser Thr Ser Pro Leu Leu Glu Ala Cys Ala
    690                 695                 700

Phe Leu Thr Arg
705
```

<210> 12
<211> 376
<212> PRT
<213> Salmón

<400> 12

```
Met Val Glu Asp Glu Val Ala Ala Leu Val Ile Asp Asn Gly Ser Gly
1               5                   10                  15

Met Cys Lys Ser Gly Phe Ala Gly Asp Asp Ala Pro Arg Ala Val Phe
            20                  25                  30

Pro Ser Ile Val Gly Arg Pro Arg His Val Gly Ile Met Val Gly Met
        35                  40                  45

Gly Gln Lys Asp Ser Tyr Val Gly Asp Glu Ala Gln Ser Lys Arg Gly
    50                  55                  60

Ile Leu Ser Leu Lys Tyr Pro Ile Asp His Gly Ile Val Thr Asn Trp
65                  70                  75                  80

Asp Asp Met Glu Lys Ile Trp His His Thr Phe Tyr Asn Glu Leu Arg
                85                  90                  95

Val Ala Pro Glu Glu His Pro Val Leu Leu Thr Glu Ala Pro Leu Asn
            100                 105                 110

Pro Lys Asn Asn Arg Glu Lys Met Thr Gln Ile Met Phe Glu Thr Phe
        115                 120                 125

Asn Ser Pro Ala Met Tyr Val Ala Ile Gln Ala Val Leu Ser Leu Tyr
    130                 135                 140
```

```
Ala Ser Gly Arg Thr Thr Gly Ile Val Leu Asp Ser Gly Asp Gly Val
145                 150                 155                 160

Thr His Thr Val Pro Ile Tyr Glu Gly Tyr Ala Leu Pro His Ala Val
                165                 170                 175

Leu Arg Leu Asp Leu Ala Gly Arg Asp Leu Thr Asp Tyr Leu Met Lys
            180                 185                 190

Val Leu Thr Glu Arg Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Thr Ala Glu Arg Glu
        195                 200                 205

Ile Val Arg Asp Val Lys Glu Lys Leu Cys Tyr Val Ala Leu Asp Tyr
    210                 215                 220

Thr Asn Glu Leu Ala Val Ala Gly Ser Ser Ser Ser Leu Glu Lys Ser
225                 230                 235                 240

Tyr Glu Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Thr Ile Gly Ser Glu Arg Phe
                245                 250                 255

Arg Cys Pro Glu Ala Leu Phe Gln Pro Ala Leu Ile Gly Met Glu Ala
            260                 265                 270

Val Gly Ile His Glu Thr Ala Tyr Asn Ser Ile Met Lys Cys Asp Val
        275                 280                 285

Asp Ile Arg Lys Asp Leu Tyr Ala Asn Thr Val Leu Ser Gly Gly Ser
    290                 295                 300

Thr Met Phe Ser Gly Ile Ala Asp Arg Met Gln Lys Glu Val Ser Ala
305                 310                 315                 320

Leu Ala Pro Thr Thr Met Lys Ile Lys Ile Ile Ser Pro Pro Glu Arg
                325                 330                 335

Lys Tyr Ser Val Trp Ile Gly Gly Ser Ile Leu Ala Ser Leu Ser Thr
            340                 345                 350

Phe Gln Gln Met Trp Ile Ser Lys Met Glu Tyr Asp Glu Ser Gly Pro
        355                 360                 365

Ala Ile Val His Arg Lys Cys Phe
    370                 375
```

<210> 13
<211> 1352
<212> PRT
<213> Salmón

<400> 13

```
Met Leu Ser Phe Val Asp Asn Arg Ile Leu Leu Leu Leu Ala Val Thr
1               5                  10                  15

Ser Leu Leu Ala Ser Cys Gln Ser Gly Pro Arg Gly Ala Lys Gly Pro
            20                  25                  30

Arg Gly Asp Arg Gly Pro Gln Gly Pro Asn Gly Arg Asp Gly Lys Ala
        35                  40                  45

Gly Leu Pro Gly Val Ala Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Leu Gly Gly
    50                  55                  60

Asn Phe Ala Ala Gln Phe Asp Gly Gly Lys Gly Ser Asp Pro Gly Pro
65                  70                  75                  80

Gly Pro Met Gly Leu Met Gly Ser Arg Gly Pro Asn Gly Pro Pro Gly
                85                  90                  95

Ser Pro Gly Pro Gln Gly Phe Thr Gly His Ala Gly Glu Pro Gly Glu
            100                 105                 110

Pro Gly Gln Thr Gly Ser Ile Gly Ala Arg Gly Pro Thr Gly Ser Ala
        115                 120                 125

Gly Lys Pro Gly Glu Asp Gly Asn Asn Gly Arg Pro Gly Lys Pro Gly
    130                 135                 140

Asp Arg Gly Gly Pro Gly Thr Gln Gly Ala Arg Gly Phe Pro Gly Thr
145                 150                 155                 160

Pro Gly Leu Pro Gly Met Lys Gly His Arg Gly Tyr Asn Gly Leu Asp
                165                 170                 175

Gly Arg Lys Gly Glu Ser Gly Thr Ala Gly Ala Lys Gly Glu Thr Gly
            180                 185                 190

Ala His Gly Ala Asn Gly Thr Pro Gly Pro Ala Gly Ser Arg Gly Leu
        195                 200                 205

Asn Gly Glu Arg Gly Arg Ala Gly Pro Ala Gly Pro Ala Gly Ala Arg
    210                 215                 220

Gly Ala Asp Gly Ser Thr Gly Pro Ala Gly Pro Ala Gly Pro Leu Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Ala Ala Gly Pro Pro Gly Phe Pro Gly Ala Pro Gly Pro Lys Gly Glu
               245                 250                 255

Ile Gly Gly Ala Gly Ser Asn Gly Pro Ser Gly Pro Gln Gly Gly Arg
            260                 265                 270

Gly Glu Pro Gly Ile Asn Gly Ala Val Gly Pro Val Gly Pro Val Gly
        275                 280                 285

Asn Pro Gly Asn Asn Gly Ile Asn Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Leu
    290                 295                 300

Pro Gly Val Ala Gly Ala Pro Gly Phe Pro Gly Pro Arg Gly Gly Pro
305                 310                 315                 320

Gly Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ser Thr Gly Ala Arg Gly Leu Gly Gly
               325                 330                 335

Asp Pro Gly Pro Ser Gly Gln Lys Gly Asp Ser Gly Ala Lys Gly Glu
            340                 345                 350

Pro Gly His Ser Gly Val Gln Gly Ala Ala Gly Pro Ala Gly Glu Glu
        355                 360                 365

Gly Lys Arg Gly Ser Thr Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Pro Ala Gly
    370                 375                 380

Leu Arg Gly Ala Arg Gly Gly Ala Gly Thr Arg Gly Leu Pro Gly Leu
385                 390                 395                 400

Glu Gly Arg Gly Gly Pro Ile Gly Met Pro Gly Ala Arg Gly Ala Thr
               405                 410                 415

Gly Pro Ala Gly Ile Arg Gly Ala Pro Gly Asp Ala Gly Arg Ala Gly
            420                 425                 430

Glu Ser Gly Leu Thr Gly Ala Arg Gly Leu Pro Gly Asn Ser Gly Gln
        435                 440                 445

Gly Gly Pro Pro Gly Lys Glu Gly Pro Ser Gly Ala Ala Gly Leu Asp
    450                 455                 460

Gly Arg Thr Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Arg Gly Gln Pro Gly
465                 470                 475                 480

Asn Ile Gly Phe Pro Gly Pro Lys Gly Pro Gly Gly Glu Ala Gly Lys
```

485 490 495

Gly Gly Asp Lys Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Arg Gly Gly Pro
500 505 510

Gly Ala Asp Gly Asn Asn Gly Ala Pro Gly Pro Ala Gly Val Val Gly
515 520 525

Asn Ala Gly Glu Lys Gly Glu Gln Gly Pro Ser Gly Ala Pro Gly Phe
530 535 540

Gln Gly Leu Pro Gly Pro Ala Gly Pro Ala Gly Glu Ala Gly Lys Ala
545 550 555 560

Gly Asn Gln Gly Met Pro Gly Asp Gln Gly Leu Pro Gly Pro Ala Gly
565 570 575

Val Lys Gly Glu Arg Gly Asn Ser Gly Pro Ala Gly Ser Ala Gly Ser
580 585 590

Gln Gly Ala Ile Gly Ala Arg Gly Pro Ala Gly Thr Pro Gly Pro Asp
595 600 605

Gly Gly Lys Gly Glu Pro Gly Ser Val Gly Ile Val Gly Ala Ala Gly
610 615 620

His Gln Gly Pro Gly Gly Met Pro Gly Glu Arg Gly Ala Gly Gly Thr
625 630 635 640

Pro Gly Pro Lys Gly Glu Lys Gly Glu Gly Gly His Arg Gly Leu Glu
645 650 655

Gly Asn Met Gly Arg Asp Gly Ala Arg Gly Ala Ala Gly Pro Ser Gly
660 665 670

Pro Pro Gly Pro Ser Gly Ala Asn Gly Glu Lys Gly Glu Ser Gly Ser
675 680 685

Phe Gly Pro Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Gly Pro Ser Gly Glu Arg
690 695 700

Gly Glu Gly Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly Phe Ala Gly Pro Pro Gly
705 710 715 720

Ser Asp Gly Gln Ser Gly Pro Arg Gly Glu Lys Gly Pro Ala Gly Gly
725 730 735

```
Lys Gly Asp Val Gly Pro Ala Gly Pro Ala Gly Pro Ser Gly Gln Ser
            740                 745                 750

Gly Pro Ser Gly Ala Ser Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly Gly Arg Gly
        755                 760                 765

Asp Ala Gly Pro Ser Gly Leu Thr Gly Phe Pro Gly Ala Ala Gly Arg
    770                 775                 780

Val Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Ile Ser Gly Pro Pro Gly Ser Ala
785                 790                 795                 800

Gly Pro Ala Gly Lys Asp Gly Pro Arg Gly Leu Arg Gly Asp Ala Gly
                805                 810                 815

Pro Gly Gly Pro Gln Gly Glu Gln Gly Val Val Gly Pro Ala Gly Ile
            820                 825                 830

Ala Gly Asp Lys Gly Pro Ser Gly Glu Gly Gly Pro Pro Gly Ala Pro
        835                 840                 845

Gly Thr Ala Gly Pro Gln Gly Val Leu Gly Pro Ser Gly Phe Val Gly
    850                 855                 860

Leu Pro Gly Ser Arg Gly Asp Lys Gly Leu Pro Gly Gly Pro Gly Ala
865                 870                 875                 880

Val Gly Glu Pro Gly Arg Leu Gly Pro Ala Gly Ala Ser Gly Pro Arg
                885                 890                 895

Gly Pro Ser Gly Asn Ile Gly Met Pro Gly Met Thr Gly Thr Gln Gly
            900                 905                 910

Glu Ala Gly Arg Glu Gly Asn Ser Gly Asn Asp Gly Pro Pro Gly Arg
        915                 920                 925

Pro Gly Ala Ala Gly Phe Lys Gly Asp Arg Gly Glu Pro Gly Ser Pro
    930                 935                 940

Gly Ala Leu Gly Ser Ser Gly Gln Pro Gly Pro Asn Gly Pro Ala Gly
945                 950                 955                 960

Ser Ala Gly Arg Pro Gly Asn Arg Gly Glu Ser Gly Pro Thr Gly Asn
                965                 970                 975

Gly Gly Pro Val Gly Ala Ala Gly Ala Arg Gly Ala Pro Gly Pro Ala
            980                 985                 990
```

```
Gly Pro Arg Gly Glu Lys Gly Gly  Ala Gly Glu Lys Gly  Asp Arg Gly
        995                 1000                 1005

Met Lys  Gly Leu Arg Gly His  Gly Gly Leu Gln Gly  Met Pro Gly
    1010                1015                1020

Pro Asn  Gly Pro Ser Gly Glu  Thr Gly Ser Ala Gly  Ile Thr Gly
    1025                1030                1035

Pro Ala  Gly Pro Arg Gly Pro  Ala Gly Pro His Gly  Pro Pro Gly
    1040                1045                1050

Lys Asp  Gly Arg Ala Gly Gly  His Gly Ala Ile Gly  Pro Val Gly
    1055                1060                1065

His Arg  Gly Pro Pro Gly His  Leu Gly Pro Ala Gly  Pro Pro Gly
    1070                1075                1080

Ser Pro  Gly Leu Pro Gly Pro  Ala Gly Pro Ala Gly  Gly Gly Tyr
    1085                1090                1095

Asp Gln  Ser Gly Gly Tyr Asp  Glu Tyr Arg Ala Asp  Gln Pro Ser
    1100                1105                1110

Leu Arg  Ala Lys Asp Tyr Glu  Val Asp Ala Thr Ile  Lys Ser Leu
    1115                1120                1125

Asn Ser  Gln Ile Glu Asn Leu  Leu Thr Pro Glu Gly  Ser Lys Lys
    1130                1135                1140

Asn Pro  Ala Arg Thr Cys Arg  Asp Ile Arg Leu Ser  His Pro Glu
    1145                1150                1155

Trp Ser  Ser Gly Phe Tyr Trp  Ile Gly Pro Asn Gln  Gly Cys Ile
    1160                1165                1170

Ala Asp  Ala Ile Lys Ala Tyr  Cys Asp Phe Ser Thr  Gly His Thr
    1175                1180                1185

Cys Ile  His Pro His Pro Glu  Ser Ile Ala Arg Lys  Asn Trp Tyr
    1190                1195                1200

Arg Ser  Ser Glu Asn Lys Lys  His Val Trp Phe Gly  Glu Thr Ile
    1205                1210                1215

Asn Gly  Gly Thr Glu Phe Ala  Tyr Asn Asp Glu Thr  Leu Ser Pro
    1220                1225                1230
```

```
Gln Ser  Met Ala Thr Gln Leu  Ala Phe Met Arg Leu  Leu Ala Asn
    1235                 1240                 1245

Gln Ala  Thr Gln Asn Ile Thr  Tyr His Cys Lys Asn  Ser Val Ala
    1250                 1255                 1260

Tyr Met  Asp Gly Glu Asn Gly  Asn Leu Lys Lys Ala  Val Leu Leu
    1265                 1270                 1275

Gln Gly  Ser Asn Asp Val Glu  Leu Arg Ala Glu Gly  Asn Ser Arg
    1280                 1285                 1290

Phe Thr  Phe Asn Val Leu Glu  Asp Gly Cys Thr Arg  His Thr Gly
    1295                 1300                 1305

Gln Trp  Ser Lys Thr Val Ile  Glu Tyr Arg Thr Asn  Lys Pro Ser
    1310                 1315                 1320

Arg Leu  Pro Ile Leu Asp Ile  Ala Pro Leu Asp Ile  Gly Glu Ala
    1325                 1330                 1335

Asp Gln  Glu Phe Gly Leu Asp  Ile Gly Pro Val Cys  Phe Lys
    1340                 1345                 1350
```

<210> 14
<211> 1306
<212> PRT
<213> *Bos taurus*

<400> 14

```
Gln Met Ala Gly Gly Phe Asp Glu Lys Ala Gly Gly Ala Gln Met Gly
1               5                  10                  15

Val Met Gln Gly Pro Met Gly Pro Met Gly Pro Arg Gly Pro Pro Gly
            20                  25                  30

Pro Ala Gly Ala Pro Gly Pro Gln Gly Phe Gln Gly Asn Pro Gly Glu
        35                  40                  45

Pro Gly Glu Pro Gly Val Ser Gly Pro Met Gly Pro Arg Gly Pro Pro
    50                  55                  60

Gly Pro Pro Gly Lys Pro Gly Asp Asp Gly Glu Ala Gly Lys Pro Gly
65                  70                  75                  80

Lys Ser Gly Glu Arg Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Ala Arg Gly Phe
                85                  90                  95
```

```
Pro Gly Thr Pro Gly Leu Pro Gly Val Lys Gly His Arg Gly Tyr Pro
            100                 105                 110

Gly Leu Asp Gly Ala Lys Gly Glu Ala Gly Ala Pro Gly Val Lys Gly
        115                 120                 125

Glu Ser Gly Ser Pro Gly Glu Asn Gly Ser Pro Gly Pro Met Gly Pro
    130                 135                 140

Arg Gly Leu Pro Gly Glu Arg Gly Arg Thr Gly Pro Ala Gly Ala Ala
145                 150                 155                 160

Gly Ala Arg Gly Asn Asp Gly Gln Pro Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly
                165                 170                 175

Pro Val Gly Pro Ala Gly Gly Pro Gly Phe Pro Gly Ala Pro Gly Ala
            180                 185                 190

Lys Gly Glu Ala Gly Pro Thr Gly Ala Arg Gly Pro Glu Gly Ala Gln
        195                 200                 205

Gly Pro Arg Gly Glu Pro Gly Thr Pro Gly Ser Pro Gly Pro Ala Gly
    210                 215                 220

Ala Ala Gly Asn Pro Gly Thr Asp Gly Ile Pro Gly Ala Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240

Ala Gly Ala Pro Gly Ile Ala Gly Ala Pro Gly Phe Pro Gly Pro Arg
                245                 250                 255

Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Ala Thr Gly Pro Leu Gly Pro Lys Gly
            260                 265                 270

Gln Thr Gly Glu Pro Gly Ile Ala Gly Phe Lys Gly Glu Gln Gly Pro
        275                 280                 285

Lys Gly Glu Pro Gly Pro Ala Gly Pro Gln Gly Ala Pro Gly Pro Ala
    290                 295                 300

Gly Glu Glu Gly Lys Arg Gly Ala Arg Gly Glu Pro Gly Gly Ala Gly
305                 310                 315                 320

Pro Ala Gly Pro Pro Gly Glu Arg Gly Ala Pro Gly Asn Arg Gly Phe
                325                 330                 335

Pro Gly Gln Asp Gly Leu Ala Gly Pro Lys Gly Ala Pro Gly Glu Arg
```

```
            340                 345                 350

Gly Pro Ser Gly Leu Ala Gly Pro Lys Gly Ala Asn Gly Asp Pro Gly
        355                 360                 365

Arg Pro Gly Glu Pro Gly Leu Pro Gly Ala Arg Gly Leu Thr Gly Arg
    370                 375                 380

Pro Gly Asp Ala Gly Pro Gln Gly Lys Val Gly Pro Ser Gly Ala Pro
385                 390                 395                 400

Gly Glu Asp Gly Arg Pro Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Ala Arg Gly
                405                 410                 415

Gln Pro Gly Val Met Gly Phe Pro Gly Pro Lys Gly Ala Asn Gly Glu
            420                 425                 430

Pro Gly Lys Ala Gly Glu Lys Gly Leu Pro Gly Ala Pro Gly Leu Arg
        435                 440                 445

Gly Leu Pro Gly Lys Asp Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Pro Pro Gly
    450                 455                 460

Pro Ala Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Glu Gln Gly Ala Pro Gly Pro
465                 470                 475                 480

Ser Gly Phe Gly Gly Leu Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Glu Gly
                485                 490                 495

Gly Lys Pro Gly Asp Gly Gly Val Pro Gly Glu Ala Gly Ala Pro Gly
            500                 505                 510

Leu Val Gly Pro Arg Gly Glu Arg Gly Phe Pro Gly Glu Arg Gly Ser
        515                 520                 525

Pro Gly Ser Gln Gly Leu Gln Gly Ala Arg Gly Leu Pro Gly Thr Pro
    530                 535                 540

Gly Thr Asp Gly Pro Lys Gly Ala Ala Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly
545                 550                 555                 560

Ala Gln Gly Pro Pro Gly Leu Gln Gly Met Pro Gly Glu Arg Gly Ala
                565                 570                 575

Ala Gly Ile Ala Gly Pro Lys Gly Asp Arg Gly Asp Val Gly Glu Lys
            580                 585                 590
```

```
Gly Pro Glu Gly Ala Pro Gly Lys Asp Gly Gly Arg Gly Leu Thr Gly
        595                 600                 605

Pro Ile Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Ala Asn Gly Glu Lys Gly Glu
    610                 615                 620

Val Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Thr Ala Gly Ala Arg Gly Ala Pro
625                 630                 635                 640

Gly Glu Arg Gly Glu Thr Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Phe Ala Gly
                645                 650                 655

Pro Pro Gly Ala Asp Gly Gln Pro Gly Ala Lys Gly Glu Gln Gly Glu
            660                 665                 670

Ala Gly Gln Lys Gly Asp Ala Gly Ala Pro Gly Pro Gln Gly Pro Ser
        675                 680                 685

Gly Ala Pro Gly Pro Gln Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Lys Gly
    690                 695                 700

Ala Arg Gly Ala Gln Gly Pro Pro Gly Ala Thr Gly Phe Pro Gly Ala
705                 710                 715                 720

Ala Gly Arg Val Gly Pro Pro Gly Ser Asn Gly Asn Pro Gly Pro Pro
                725                 730                 735

Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Lys Asp Gly Pro Lys Gly Ala Arg Gly
            740                 745                 750

Asp Ser Gly Pro Pro Gly Arg Ala Gly Asp Pro Gly Leu Gln Gly Pro
        755                 760                 765

Ala Gly Pro Pro Gly Glu Lys Gly Glu Pro Gly Asp Asp Gly Pro Ser
    770                 775                 780

Gly Pro Asp Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln Arg Gly
785                 790                 795                 800

Ile Val Gly Leu Pro Gly Gln Arg Gly Glu Arg Gly Phe Pro Gly Leu
                805                 810                 815

Pro Gly Pro Ser Gly Glu Pro Gly Lys Gln Gly Ala Pro Gly Ala Ser
            820                 825                 830

Gly Asp Arg Gly Pro Pro Gly Pro Val Gly Pro Pro Gly Leu Thr Gly
        835                 840                 845
```

```
Pro Ala Gly Glu Pro Gly Arg Glu Gly Ser Pro Gly Ala Asp Gly Pro
    850                 855                 860

Pro Gly Arg Asp Gly Ala Ala Gly Val Lys Gly Asp Arg Gly Glu Thr
865                 870                 875                 880

Gly Ala Val Gly Ala Pro Gly Ala Pro Gly Pro Pro Gly Ser Pro Gly
                885                 890                 895

Pro Ala Gly Pro Ile Gly Lys Gln Gly Asp Arg Gly Glu Ala Gly Ala
            900                 905                 910

Gln Gly Pro Met Gly Pro Ala Gly Pro Ala Gly Ala Arg Gly Met Pro
        915                 920                 925

Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Asp Lys Gly Glu Thr Gly Glu Ala Gly
    930                 935                 940

Glu Arg Gly Leu Lys Gly His Arg Gly Phe Thr Gly Leu Gln Gly Leu
945                 950                 955                 960

Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Asp Gln Gly Ala Ser Gly Pro Ala
                965                 970                 975

Gly Pro Ser Gly Pro Arg Gly Pro Pro Gly Pro Val Gly Pro Ser Gly
            980                 985                 990

Lys Asp Gly Ala Asn Gly Ile Pro  Gly Pro Ile Gly Pro  Pro Gly Pro
        995                 1000                1005

Arg Gly  Arg Ser Gly Glu Thr  Gly Pro Ala Gly Pro  Pro Gly Asn
    1010                1015                1020

Pro Gly  Pro Pro Gly Pro Pro  Gly Pro Pro Gly Pro  Gly Ile Asp
    1025                1030                1035

Met Ser  Ala Phe Ala Gly Leu  Gly Gln Arg Glu Lys  Gly Pro Asp
    1040                1045                1050

Pro Leu  Gln Tyr Met Arg Ala  Asp Glu Ala Ala Gly  Asn Leu Arg
    1055                1060                1065

Gln His  Asp Ala Glu Val Asp  Ala Thr Leu Lys Ser  Leu Asn Asn
    1070                1075                1080

Gln Ile  Glu Ser Leu Arg Ser  Pro Glu Gly Ser Arg  Lys Asn Pro
    1085                1090                1095
```

```
Ala Arg  Thr Cys Arg Asp Leu  Lys Leu Cys His Pro  Glu Trp Lys
    1100                1105                1110

Ser Gly  Asp Tyr Trp Ile Asp  Pro Asn Gln Gly Cys  Thr Leu Asp
    1115                1120                1125

Ala Met  Lys Val Phe Cys Asn  Met Glu Thr Gly Glu  Thr Cys Val
    1130                1135                1140

Tyr Pro  Asn Pro Ala Ser Val  Pro Lys Lys Asn Trp  Trp Ser Ser
    1145                1150                1155

Lys Ser  Lys Asp Lys Lys His  Ile Trp Phe Gly Glu  Thr Ile Asn
    1160                1165                1170

Gly Gly  Phe His Phe Ser Tyr  Gly Asp Asp Asn Leu  Ala Pro Asn
    1175                1180                1185

Thr Ala  Asn Val Gln Met Thr  Phe Leu Arg Leu Leu  Ser Thr Glu
    1190                1195                1200

Gly Ser  Gln Asn Ile Thr Tyr  His Cys Lys Asn Ser  Ile Ala Tyr
    1205                1210                1215

Leu Asp  Glu Ala Ala Gly Asn  Leu Lys Lys Ala Leu  Leu Ile Gln
    1220                1225                1230

Gly Ser  Asn Asp Val Glu Ile  Arg Ala Glu Gly Asn  Ser Arg Phe
    1235                1240                1245

Thr Tyr  Thr Val Leu Lys Asp  Gly Cys Thr Lys His  Thr Gly Lys
    1250                1255                1260

Trp Gly  Lys Thr Met Ile Glu  Tyr Arg Ser Gln Lys  Thr Ser Arg
    1265                1270                1275

Leu Pro  Ile Ile Asp Ile Ala  Pro Met Asp Ile Gly  Gly Pro Glu
    1280                1285                1290

Gln Glu  Phe Gly Val Asp Ile  Gly Pro Val Cys Phe  Leu
    1295                1300                1305
```

<210> 15
<211> 805
<212> PRT
<213> *Bos taurus*

<400> 15

```
Met Ala Gly Leu Thr Ala Ala Ala Arg Arg Pro Gly Val Leu Leu Leu
1               5                   10                  15

Leu Leu Cys Ile Leu Gln Pro Ser Gln Pro Gly Gly Val Pro Gly Ala
            20                  25                  30

Val Pro Gly Gly Val Pro Gly Gly Val Phe Phe Pro Gly Ala Gly Leu
        35                  40                  45

Gly Gly Leu Gly Val Gly Ala Leu Gly Pro Gly Val Lys Pro Ala Lys
    50                  55                  60

Pro Gly Val Gly Gly Leu Ala Gly Pro Gly Leu Gly Ala Gly Leu Gly
65                  70                  75                  80

Ala Leu Pro Gly Ala Phe Pro Gly Ala Leu Val Pro Gly Gly Pro Ala
                85                  90                  95

Gly Ala Ala Ala Ala Tyr Lys Ala Ala Ala Lys Ala Gly Ala Ala Gly
            100                 105                 110

Leu Gly Val Gly Gly Ile Gly Gly Val Gly Gly Leu Gly Val Ser Thr
        115                 120                 125

Gly Ala Val Val Pro Gln Leu Gly Ala Gly Val Gly Ala Gly Val Lys
    130                 135                 140

Pro Gly Lys Val Pro Gly Val Gly Leu Pro Gly Val Tyr Pro Gly Gly
145                 150                 155                 160

Val Leu Pro Gly Ala Gly Ala Arg Phe Pro Gly Ile Gly Val Leu Pro
                165                 170                 175

Gly Val Pro Thr Gly Ala Gly Val Lys Pro Lys Ala Pro Gly Gly Gly
            180                 185                 190

Gly Ala Phe Ala Gly Ile Pro Gly Val Gly Pro Phe Gly Gly Gln Gln
        195                 200                 205

Pro Gly Val Pro Leu Gly Tyr Pro Ile Lys Ala Pro Lys Leu Pro Gly
    210                 215                 220

Gly Tyr Gly Leu Pro Tyr Ser Thr Gly Lys Leu Pro Tyr Gly Phe Gly
225                 230                 235                 240

Pro Gly Gly Val Ala Gly Ala Ala Gly Lys Ala Gly Tyr Pro Thr Gly
```

```
                245                 250                 255

Thr Gly Val Gly Pro Gln Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala
            260                 265                 270

Lys Leu Gly Ala Gly Gly Ala Gly Val Leu Pro Gly Val Gly Val Gly
        275                 280                 285

Gly Ala Gly Ile Pro Gly Ala Pro Gly Ala Ile Pro Gly Ile Gly Gly
    290                 295                 300

Ile Ala Gly Val Gly Ala Pro Asp Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
305                 310                 315                 320

Ala Lys Ala Ala Lys Phe Gly Ala Ala Gly Gly Phe Pro Gly Val Gly
                325                 330                 335

Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val
            340                 345                 350

Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro
        355                 360                 365

Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly
    370                 375                 380

Val Gly Val Pro Gly Ala Val Ser Pro Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala
385                 390                 395                 400

Ala Lys Ala Ala Lys Phe Gly Ala Arg Gly Gly Val Gly Val Gly Gly
                405                 410                 415

Ile Pro Thr Phe Gly Val Gly Pro Gly Gly Phe Pro Gly Ile Gly Asp
            420                 425                 430

Ala Ala Ala Ala Gln Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Lys Ile Gly
        435                 440                 445

Ala Gly Gly Val Gly Ala Leu Gly Gly Leu Val Pro Gly Ala Pro Gly
    450                 455                 460

Ala Ile Pro Gly Val Pro Gly Val Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Ile
465                 470                 475                 480

Pro Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Lys Ala Ala Gln Phe Gly
                485                 490                 495
```

```
Leu Gly Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly Val Gly Val Val Pro Gly
            500                 505                 510

Val Gly Val Val Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly Ile Gly Leu Gly
        515                 520                 525

Pro Gly Gly Val Ile Gly Ala Gly Val Pro Ala Ala Ala Lys Ser Ala
    530                 535                 540

Ala Lys Ala Ala Ala Lys Ala Gln Phe Arg Ala Ala Ala Gly Leu Pro
545                 550                 555                 560

Ala Gly Val Pro Gly Leu Gly Val Gly Val Gly Val Pro Gly Leu Gly
                565                 570                 575

Val Gly Val Gly Val Pro Gly Leu Gly Val Gly Ala Gly Val Pro Gly
            580                 585                 590

Leu Gly Ala Val Pro Gly Thr Leu Ala Ala Ala Lys Ala Ala Lys Phe
        595                 600                 605

Gly Pro Gly Gly Val Gly Ala Leu Gly Gly Val Gly Asp Leu Gly Gly
    610                 615                 620

Ala Gly Ile Pro Gly Gly Val Ala Gly Val Gly Pro Ala Ala Ala Ala
625                 630                 635                 640

Ala Ala Ala Lys Ala Ala Val Gln Leu Val Pro Lys His Arg Asn Pro
                645                 650                 655

His Ala Gly Leu Gly His Thr Ile Ser Trp Pro Pro Trp Pro Pro Phe
            660                 665                 670

Pro Arg Pro Ile Ala Val Pro Tyr Val Arg Arg Leu Pro Pro Pro Pro
        675                 680                 685

Tyr Trp Glu Gln Pro Ser Cys Ser Cys Gly Ile His Pro Pro Ile Cys
    690                 695                 700

Pro Ser Val Arg Pro Ser Leu Ser Trp Phe Gly Arg Pro Ala Pro Leu
705                 710                 715                 720

Ala Gly Trp Ala Pro Pro Pro Ser Thr Trp Leu Thr Cys His Gly Ser
                725                 730                 735

Leu Gly Pro Ala Ser Thr Pro Ser His Thr Pro Leu Arg Arg Gly Pro
            740                 745                 750
```

```
Glu Pro Leu Gly Val Lys Ser Cys Thr Ser Trp Gly Arg Arg Asn Leu
        755                 760                 765

Arg Pro Asn Leu Asp Leu Pro Pro Arg Ser Thr Val Ser Pro Ser Pro
    770                 775                 780

Pro Arg Ala Thr Val Leu Gln Ser Ile Ser Pro Pro Pro Arg Pro Ser
785                 790                 795                 800

Leu Cys Val Ser Leu
                805
```

<210> 16
<211> 705
<212> PRT
<213> *Gallus gallus*

<400> 16

```
Met Lys Leu Ile Leu Cys Thr Val Leu Ser Leu Gly Ile Ala Ala Val
1               5                   10                  15

Cys Phe Ala Ala Pro Pro Lys Ser Val Ile Arg Trp Cys Thr Ile Ser
            20                  25                  30

Ser Pro Glu Glu Lys Lys Cys Asn Asn Leu Arg Asp Leu Thr Gln Gln
        35                  40                  45

Glu Arg Ile Ser Leu Thr Cys Val Gln Lys Ala Thr Tyr Leu Asp Cys
    50                  55                  60

Ile Lys Ala Ile Ala Asn Asn Glu Ala Asp Ala Ile Ser Leu Asp Gly
65                  70                  75                  80

Gly Gln Ala Phe Glu Ala Gly Leu Ala Pro Tyr Lys Leu Lys Pro Ile
                85                  90                  95

Ala Ala Glu Val Tyr Glu His Thr Glu Gly Ser Thr Thr Ser Tyr Tyr
            100                 105                 110

Ala Val Ala Val Val Lys Lys Gly Thr Glu Phe Thr Val Asn Asp Leu
        115                 120                 125

Gln Gly Lys Thr Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
    130                 135                 140

Asn Ile Pro Ile Gly Thr Leu Leu His Arg Gly Ala Ile Glu Trp Glu
145                 150                 155                 160
```

```
Gly Ile Glu Ser Gly Ser Val Glu Gln Ala Val Ala Lys Phe Phe Ser
                165                 170                 175

Ala Ser Cys Val Pro Gly Ala Thr Ile Glu Gln Lys Leu Cys Arg Gln
            180                 185                 190

Cys Lys Gly Asp Pro Lys Thr Lys Cys Ala Arg Asn Ala Pro Tyr Ser
        195                 200                 205

Gly Tyr Ser Gly Ala Phe His Cys Leu Lys Asp Gly Lys Gly Asp Val
    210                 215                 220

Ala Phe Val Lys His Thr Thr Val Asn Glu Asn Ala Pro Asp Gln Lys
225                 230                 235                 240

Asp Glu Tyr Glu Leu Leu Cys Leu Asp Gly Ser Arg Gln Pro Val Asp
                245                 250                 255

Asn Tyr Lys Thr Cys Asn Trp Ala Arg Val Ala Ala His Ala Val Val
            260                 265                 270

Ala Arg Asp Asp Asn Lys Val Glu Asp Ile Trp Ser Phe Leu Ser Lys
        275                 280                 285

Ala Gln Ser Asp Phe Gly Val Asp Thr Lys Ser Asp Phe His Leu Phe
    290                 295                 300

Gly Pro Pro Gly Lys Lys Asp Pro Val Leu Lys Asp Leu Leu Phe Lys
305                 310                 315                 320

Asp Ser Ala Ile Met Leu Lys Arg Val Pro Ser Leu Met Asp Ser Gln
                325                 330                 335

Leu Tyr Leu Gly Phe Glu Tyr Tyr Ser Ala Ile Gln Ser Met Arg Lys
            340                 345                 350

Asp Gln Leu Thr Pro Ser Pro Arg Glu Asn Arg Ile Gln Trp Cys Ala
        355                 360                 365

Val Gly Lys Asp Glu Lys Ser Lys Cys Asp Arg Trp Ser Val Val Ser
    370                 375                 380

Asn Gly Asp Val Glu Cys Thr Val Val Asp Glu Thr Lys Asp Cys Ile
385                 390                 395                 400

Ile Lys Ile Met Lys Gly Glu Ala Asp Ala Val Ala Leu Asp Gly Gly
                405                 410                 415
```

```
Leu Val Tyr Thr Ala Gly Val Cys Gly Leu Val Pro Val Met Ala Glu
            420                 425                 430

Arg Tyr Asp Asp Glu Ser Gln Cys Ser Lys Thr Asp Glu Arg Pro Ala
        435                 440                 445

Ser Tyr Phe Ala Val Ala Val Ala Arg Lys Asp Ser Asn Val Asn Trp
    450                 455                 460

Asn Asn Leu Lys Gly Lys Lys Ser Cys His Thr Ala Val Gly Arg Thr
465                 470                 475                 480

Ala Gly Trp Val Ile Pro Met Gly Leu Ile His Asn Arg Thr Gly Thr
                485                 490                 495

Cys Asn Phe Asp Glu Tyr Phe Ser Glu Gly Cys Ala Pro Gly Ser Pro
            500                 505                 510

Pro Asn Ser Arg Leu Cys Gln Leu Cys Gln Gly Ser Gly Gly Ile Pro
        515                 520                 525

Pro Glu Lys Cys Val Ala Ser Ser His Glu Lys Tyr Phe Gly Tyr Thr
    530                 535                 540

Gly Ala Leu Arg Cys Leu Val Glu Lys Gly Asp Val Ala Phe Ile Gln
545                 550                 555                 560

His Ser Thr Val Glu Glu Asn Thr Gly Gly Lys Asn Lys Ala Asp Trp
                565                 570                 575

Ala Lys Asn Leu Gln Met Asp Asp Phe Glu Leu Leu Cys Thr Asp Gly
            580                 585                 590

Arg Arg Ala Asn Val Met Asp Tyr Arg Glu Cys Asn Leu Ala Glu Val
        595                 600                 605

Pro Thr His Ala Val Val Val Arg Pro Glu Lys Ala Asn Lys Ile Arg
    610                 615                 620

Asp Leu Leu Glu Arg Gln Glu Lys Arg Phe Gly Val Asn Gly Ser Glu
625                 630                 635                 640

Lys Ser Lys Phe Met Met Phe Glu Ser Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe
                645                 650                 655

Lys Asp Leu Thr Lys Cys Leu Phe Lys Val Arg Glu Gly Thr Thr Tyr
```

660 665 670

Lys Glu Phe Leu Gly Asp Lys Phe Tyr Thr Val Ile Ser Ser Leu Lys
675 680 685

Thr Cys Asn Pro Ser Asp Ile Leu Gln Met Cys Ser Phe Leu Glu Gly
690 695 700

Lys
705

<210> 17
<211> 517
<212> PRT
<213> *Pisum sativum*

<400> 17
Met Ala Lys Leu Leu Ala Leu Ser Leu Ser Phe Cys Phe Leu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly Cys Phe Ala Leu Arg Glu Gln Pro Gln Gln Asn Glu Cys Gln
20 25 30

Leu Glu Arg Leu Asp Ala Leu Glu Pro Asp Asn Arg Ile Glu Ser Glu
35 40 45

Gly Gly Leu Ile Glu Thr Trp Asn Pro Asn Asn Lys Gln Phe Arg Cys
50 55 60

Ala Gly Val Ala Leu Ser Arg Ala Thr Leu Gln Arg Asn Ala Leu Arg
65 70 75 80

Arg Pro Tyr Tyr Ser Asn Ala Pro Gln Glu Ile Phe Ile Gln Gln Gly
85 90 95

Asn Gly Tyr Phe Gly Met Val Phe Pro Gly Cys Pro Glu Thr Phe Glu
100 105 110

Glu Pro Gln Glu Ser Glu Gln Gly Glu Gly Arg Arg Tyr Arg Asp Arg
115 120 125

His Gln Lys Val Asn Arg Phe Arg Glu Gly Asp Ile Ile Ala Val Pro
130 135 140

Thr Gly Ile Val Phe Trp Met Tyr Asn Asp Gln Asp Thr Pro Val Ile
145 150 155 160

Ala Val Ser Leu Thr Asp Ile Arg Ser Ser Asn Asn Gln Leu Asp Gln

```
                165                 170                 175

Met Pro Arg Arg Phe Tyr Leu Ala Gly Asn His Glu Gln Glu Phe Leu
            180                 185                 190

Gln Tyr Gln His Gln Gln Gly Gly Lys Gln Glu Gln Glu Asn Glu Gly
        195                 200                 205

Asn Asn Ile Phe Ser Gly Phe Lys Arg Asp Tyr Leu Glu Asp Ala Phe
    210                 215                 220

Asn Val Asn Arg His Ile Val Asp Arg Leu Gln Gly Arg Asn Glu Asp
225                 230                 235                 240

Glu Glu Lys Gly Ala Ile Val Lys Val Lys Gly Gly Leu Ser Ile Ile
                245                 250                 255

Ser Pro Pro Glu Lys Gln Ala Arg His Gln Arg Gly Ser Arg Gln Glu
            260                 265                 270

Glu Asp Glu Asp Glu Glu Lys Gln Pro Arg His Gln Arg Gly Ser Arg
        275                 280                 285

Gln Glu Glu Glu Glu Asp Glu Asp Glu Glu Arg Gln Pro Arg His Gln
    290                 295                 300

Arg Arg Arg Gly Glu Glu Glu Glu Glu Asp Lys Lys Glu Arg Gly Gly
305                 310                 315                 320

Ser Gln Lys Gly Lys Ser Arg Arg Gln Gly Asp Asn Gly Leu Glu Glu
                325                 330                 335

Thr Val Cys Thr Ala Lys Leu Arg Leu Asn Ile Gly Pro Ser Ser Ser
            340                 345                 350

Pro Asp Ile Tyr Asn Pro Glu Ala Gly Arg Ile Lys Thr Val Thr Ser
        355                 360                 365

Leu Asp Leu Pro Val Leu Arg Trp Leu Lys Leu Ser Ala Glu His Gly
    370                 375                 380

Ser Leu His Lys Asn Ala Met Phe Val Pro His Tyr Asn Leu Asn Ala
385                 390                 395                 400

Asn Ser Ile Ile Tyr Ala Leu Lys Gly Arg Ala Arg Leu Gln Val Val
                405                 410                 415
```

```
Asn Cys Asn Gly Asn Thr Val Phe Asp Gly Glu Leu Glu Ala Gly Arg
            420                 425                 430

Ala Leu Thr Val Pro Gln Asn Tyr Ala Val Ala Ala Lys Ser Leu Ser
        435                 440                 445

Asp Arg Phe Ser Tyr Val Ala Phe Lys Thr Asn Asp Arg Ala Gly Ile
    450                 455                 460

Ala Arg Leu Ala Gly Thr Ser Ser Val Ile Asn Asn Leu Pro Leu Asp
465                 470                 475                 480

Val Val Ala Ala Thr Phe Asn Leu Gln Arg Asn Glu Ala Arg Gln Leu
                485                 490                 495

Lys Ser Asn Asn Pro Phe Lys Phe Leu Val Pro Ala Arg Glu Ser Glu
            500                 505                 510

Asn Arg Ala Ser Ala
        515
```

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende al menos un péptido AP para ser utilizada en la prevención y/o el tratamiento de la diabetes de tipo 2.

2. Composición para ser utilizada según la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende al menos un péptido AP, en particular en asociación con un péptido del tipo APX' en el cual X' corresponde a un aminoácido o a un grupo de aminoácidos elegido entre: Alanina; Arginina; Asparagina; Aspartato o Ácido aspártico; Cisteína; Glutamato o Ácido glutámico; Glutamina; Glicina; Histidina; Isoleucina; Leucina; Lisina; Metionina; Fenilalanina; Prolina; Serina; Treonina; Triptófano; Tirosina y Valina.

3. Composición para ser utilizada según la reivindicación 2, en donde dicha composición está en forma unitaria y comprende una cantidad del péptido AP de 5 mg a 3 000 mg.

4. Composición para ser utilizada según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha composición comprende una cantidad de los péptidos VAP y AP de 5 mg a 3 000 mg, y en particular una cantidad de 5 mg a 7,4 mg o una cantidad de 7,5 mg a 2 250 mg o una cantidad superior a 2 250 mg hasta 3 000 mg.

5. Composición farmacéutica que comprende un péptido AP, en donde dicha composición está en forma unitaria y comprende una cantidad del péptido AP de 5 mg a 7,4 mg, en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, en donde dicha composición comprende una cantidad de los péptidos VAP y AP de 5 mg a 7,4 mg.

7. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, en donde dicha composición comprende uno o varios inhibidores de amilasas y/o uno o varios inhibidores de lipasas.

8. Utilización de al menos un péptido AP para la preparación de una composición nutracéutica o de un complemento alimentario.

9. Composición alimentaria o nutracéutica para inhibir la α-glucosidasa, en donde dicha composición comprende al menos un péptido AP, en donde dicha composición está en forma unitaria y comprende una cantidad del péptido AP de 5 mg a 1 000 mg.

10. Composición alimentaria o nutracéutica según la reivindicación 9, en donde dicha composición comprende una cantidad de los péptidos VAP y AP de 5 mg a 1 000 mg.

Figura 1:

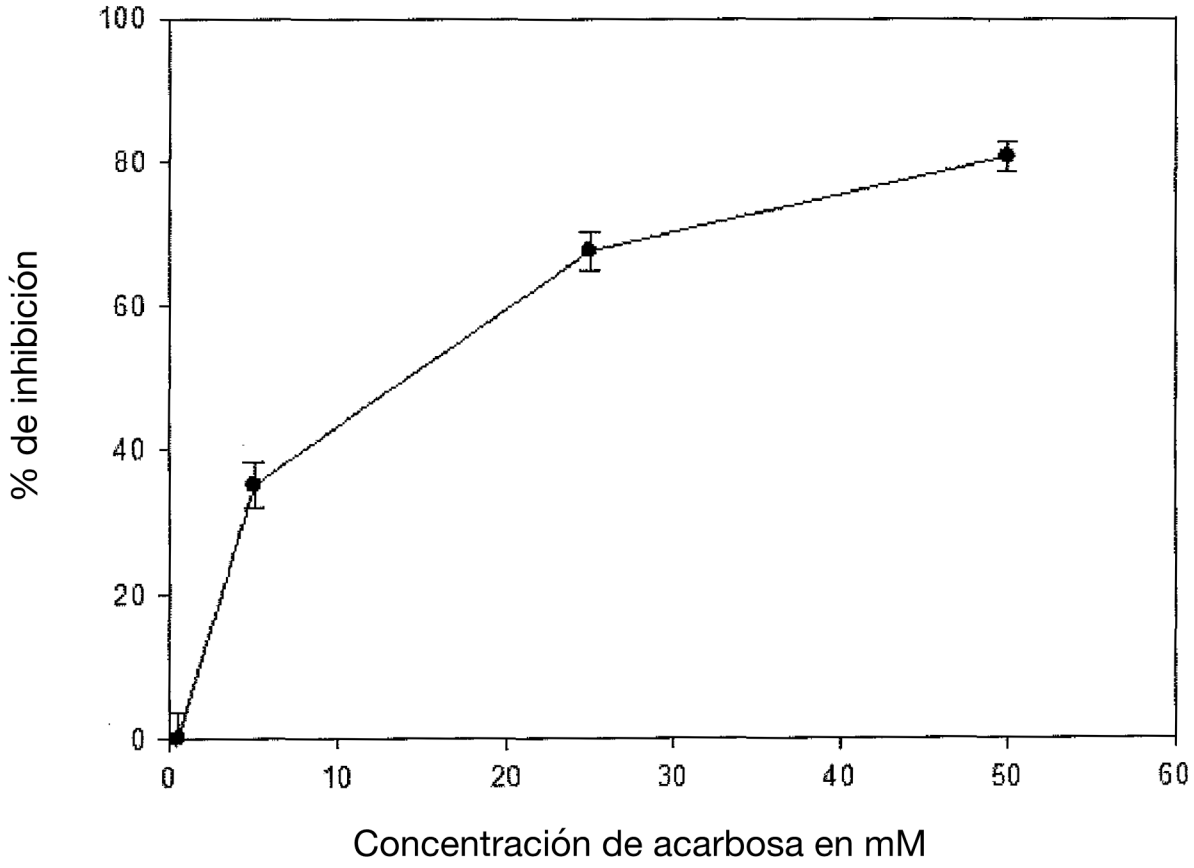

100
80
60
40
20
0
% de inhibición
0
10
20
30
40
50
60
Concentración de acarbosa en mM

Figura 2:

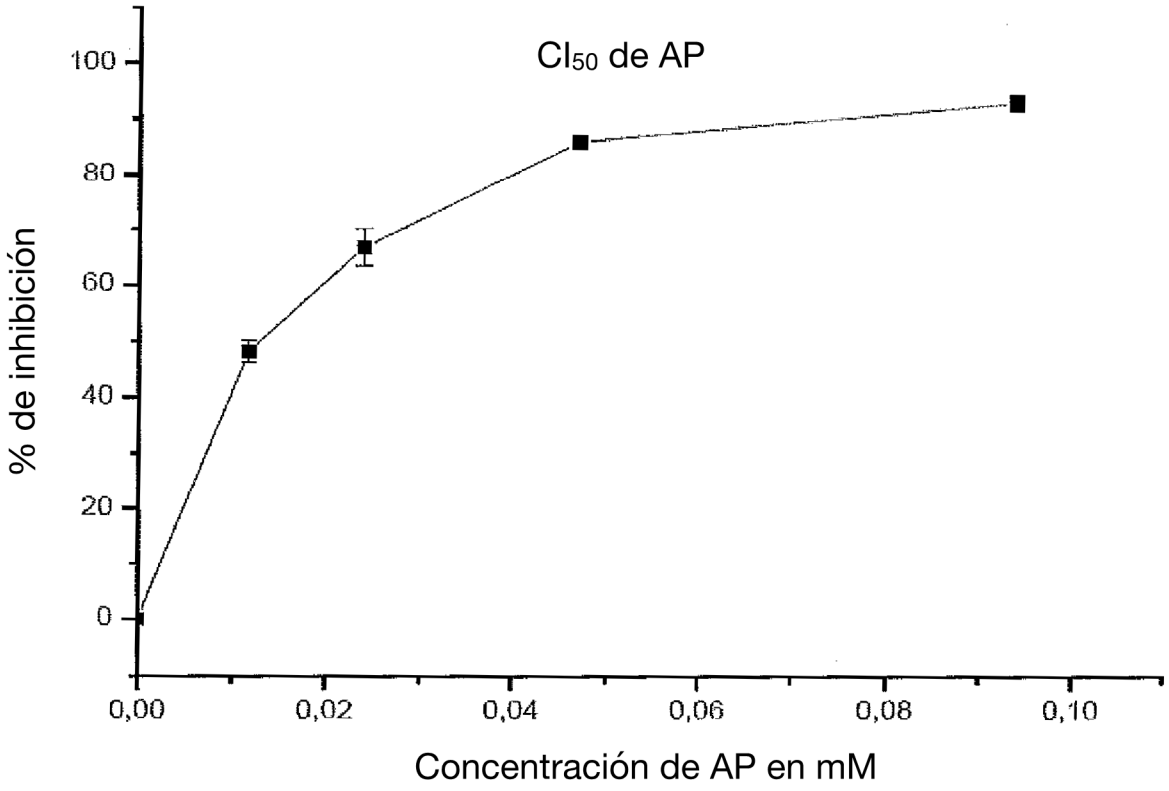

CI50 de AP
% de inhibición
100
80
60
40
20
0
0,00
0,02
0,04
0,06
0,08
0,10
Concentración de AP en mM

Figura 3:

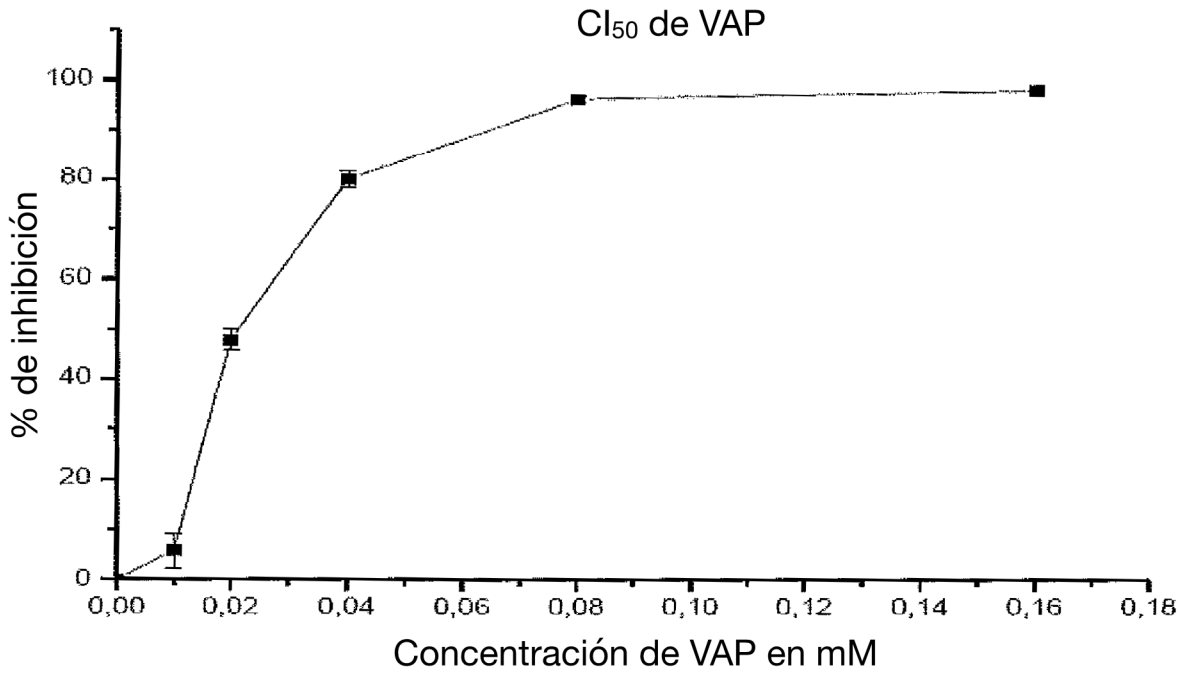

CI50 de VAP
% de inhibición
100
80
60
40
20
0
0,00
0,02
0,04
0,06
0,08
0,10
0,12
0,14
0,16
0,18
Concentración de VAP en mM

Figura 4:

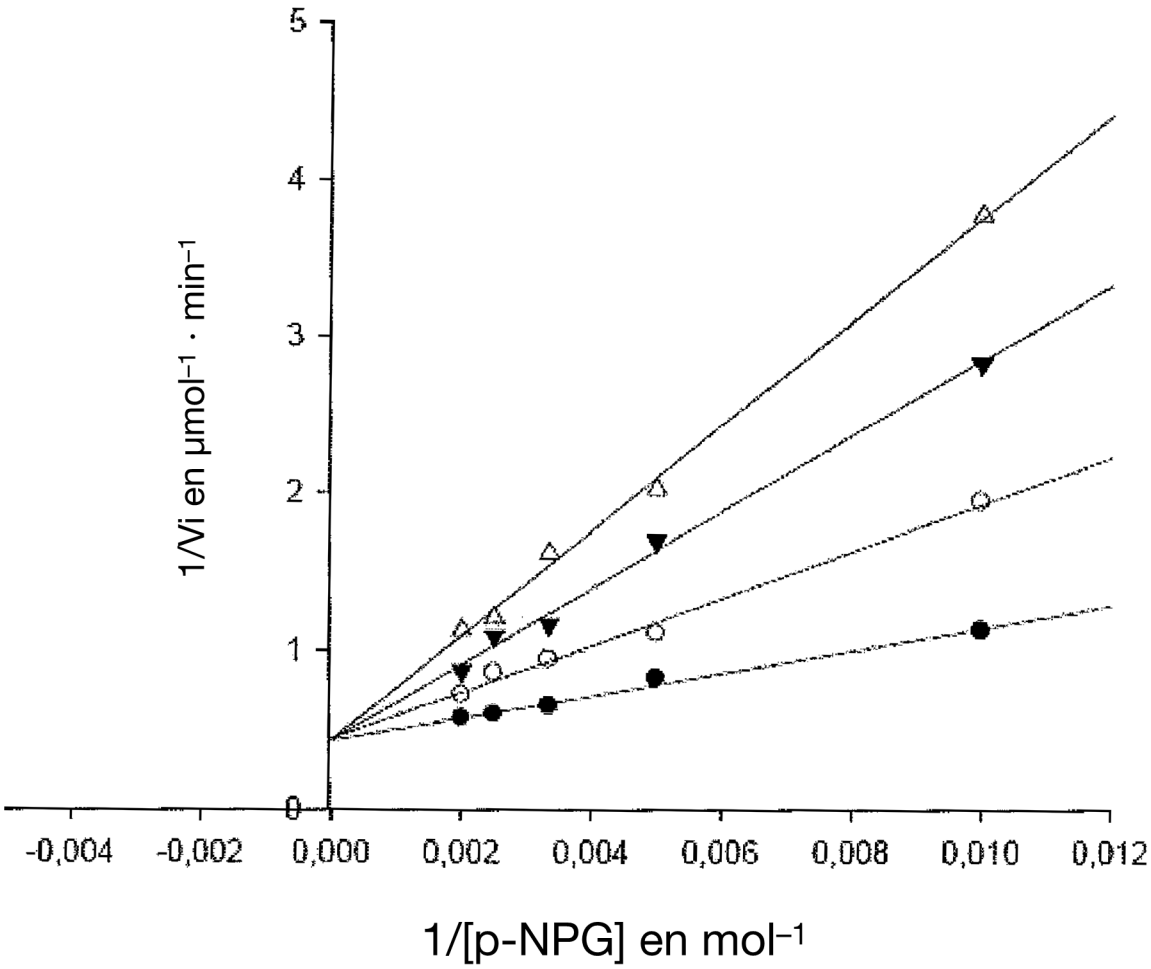

5
4
3
2
1
0
1/Vi en µmol⁻¹ · min⁻¹
-0,004
-0,002
0,000
0,002
0,004
0,006
0,008
0,010
0,012
1/[p-NPG] en mol⁻¹

Figura 5:

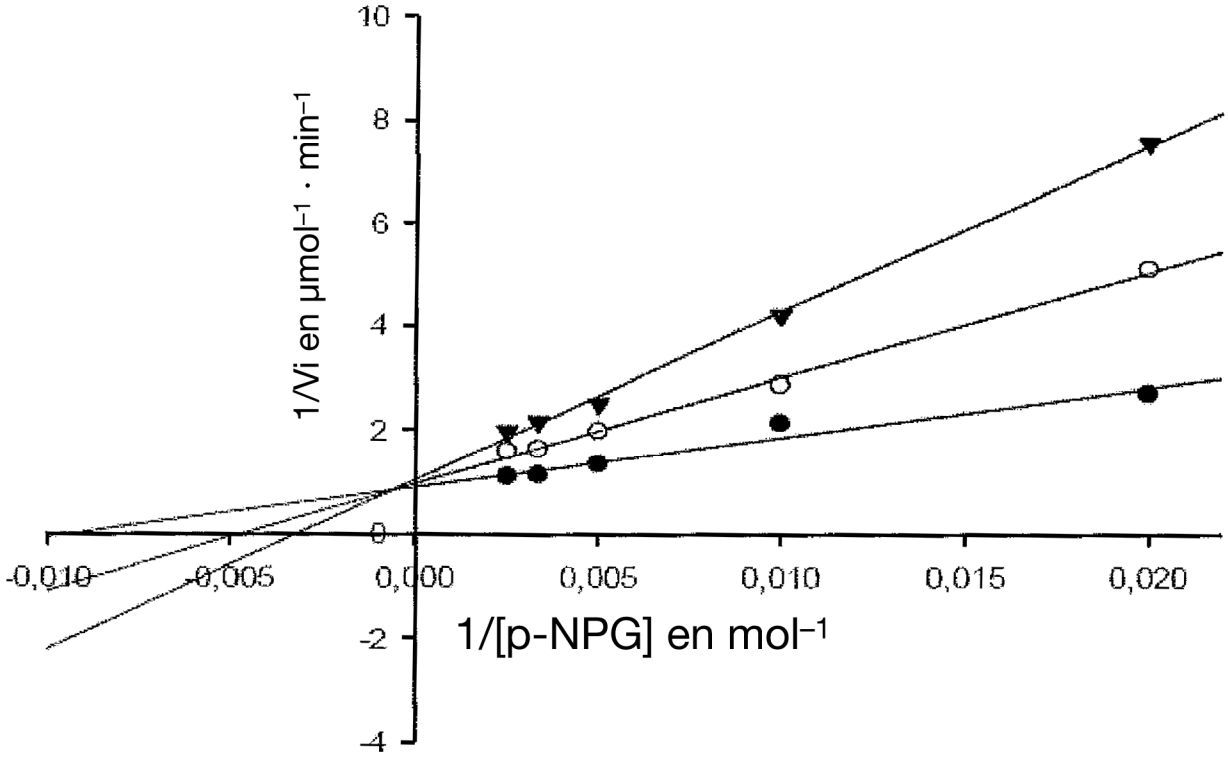

10
8
6
4
2
0
-2
-4
1/Vi en µmol⁻¹ · min⁻¹
-0,010
-0,005
0,000
0,005
0,010
0,015
0,020
1/[p-NPG] en mol⁻¹

Figura 6:

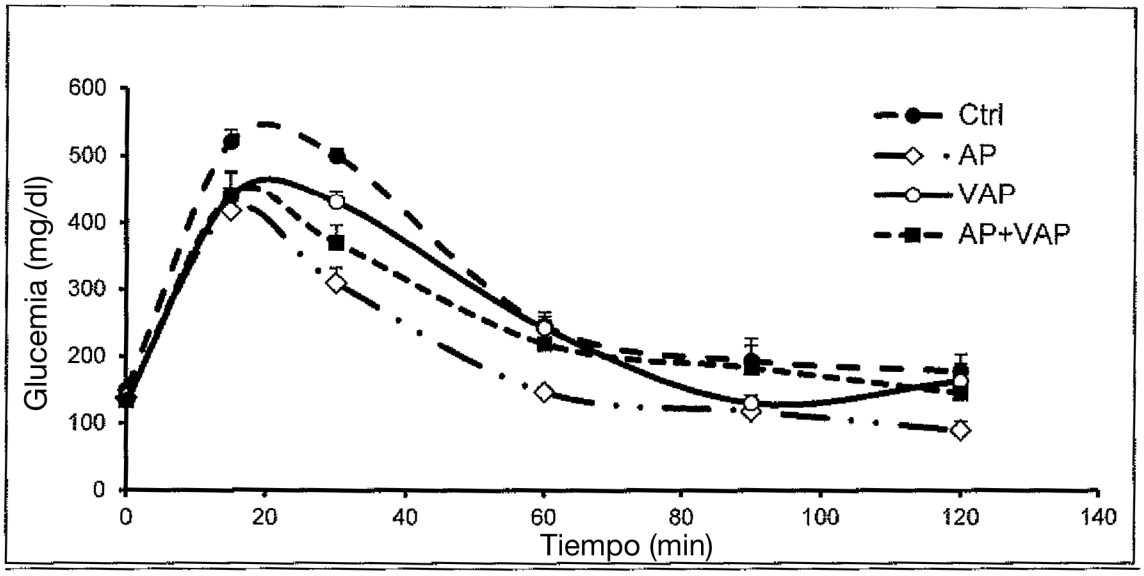


Figura 7:

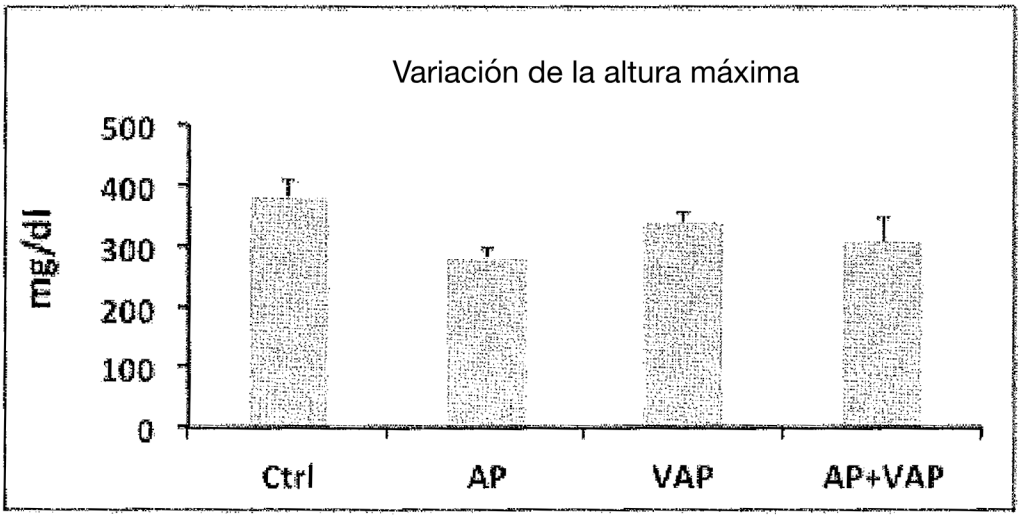


Figura 8:

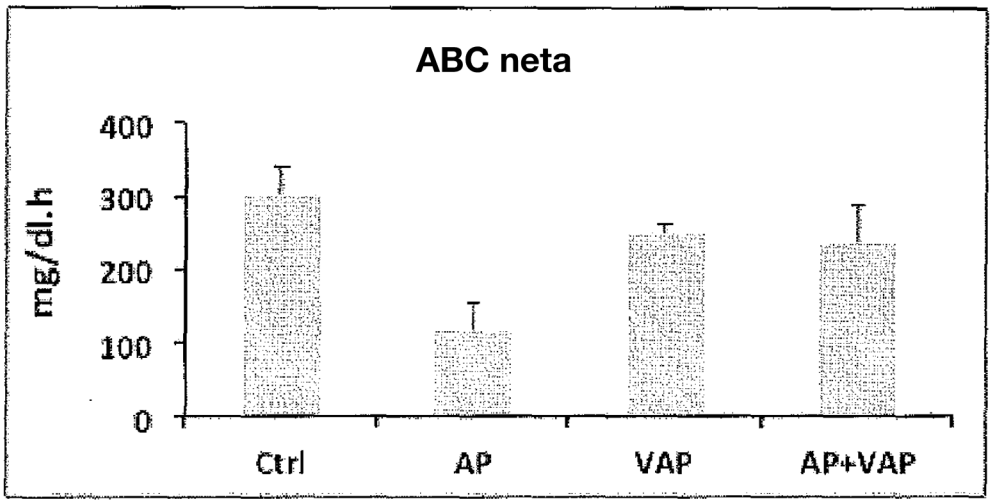


Figura 9:

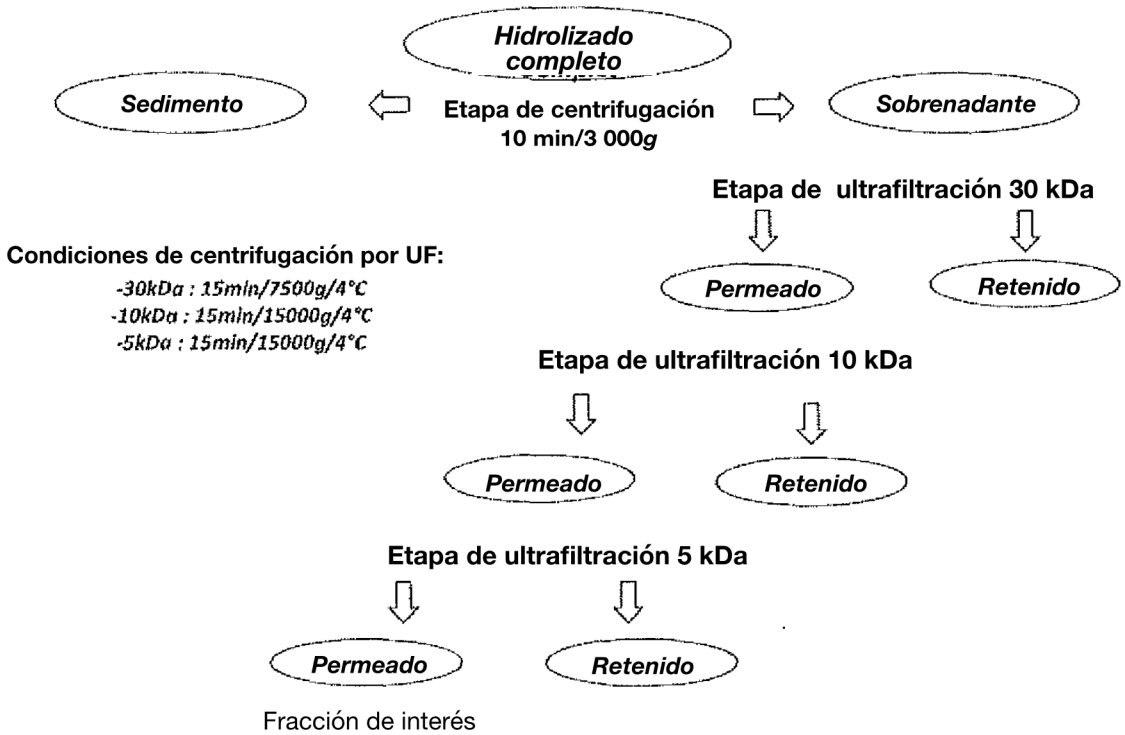


Figura 10:

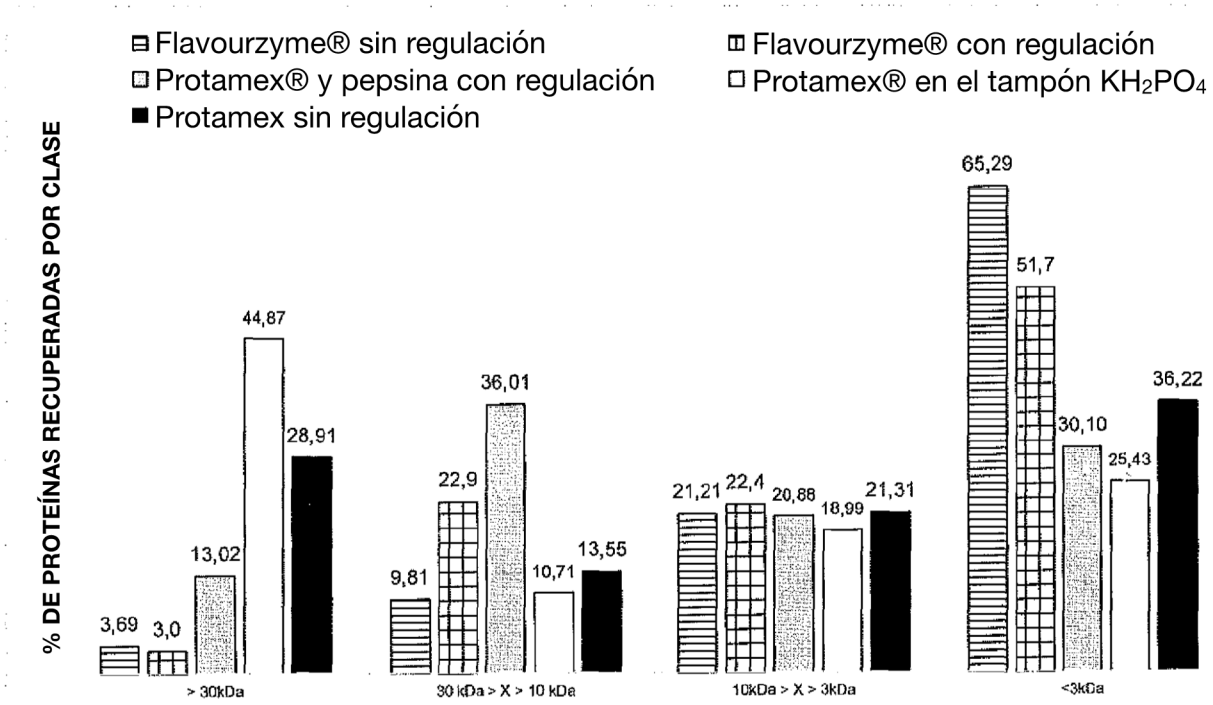
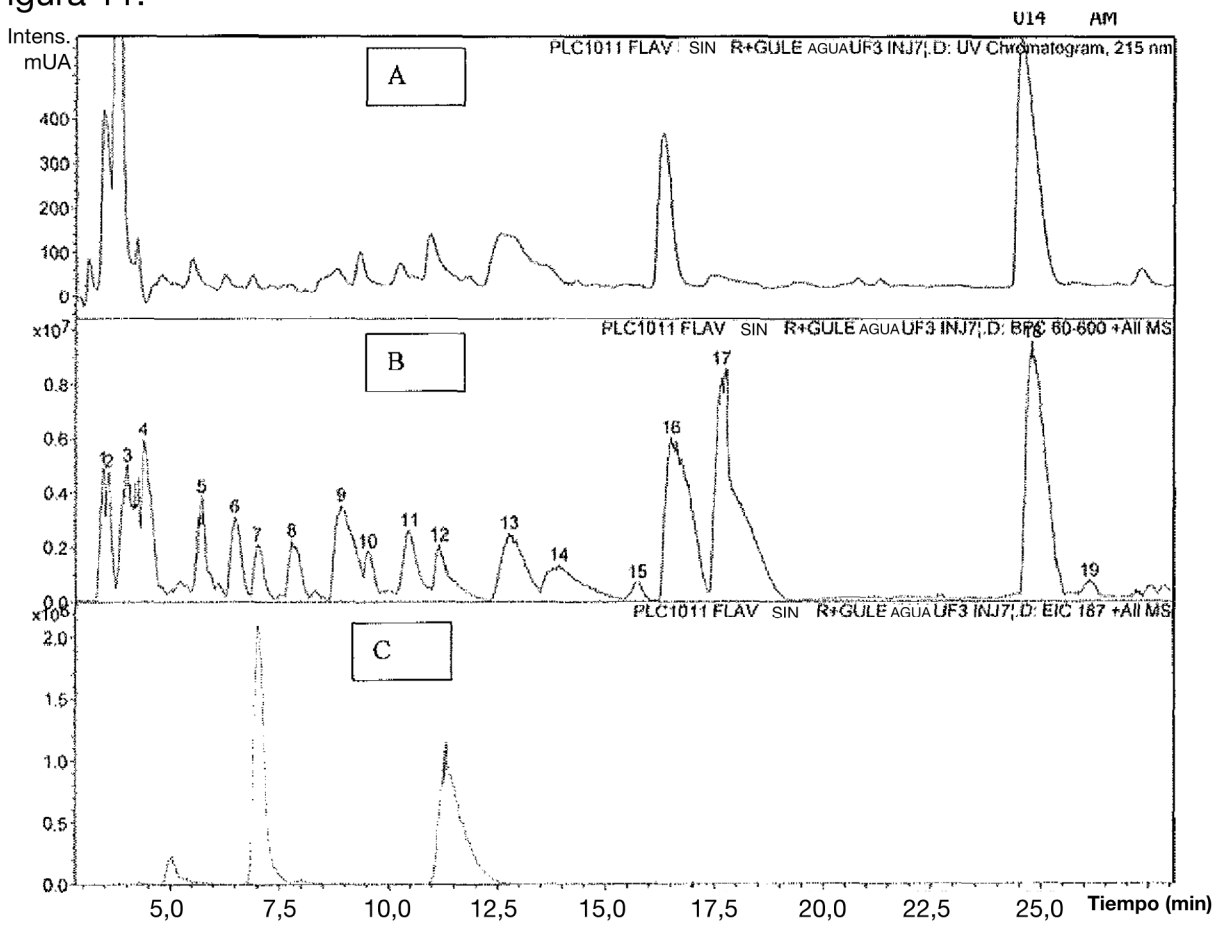

Flavourzyme® sin regulación
Protamex® y pepsina con regulación
Protamex sin regulación
Flavourzyme® con regulación
Protamex® en el tampón KH_2PO_4
% DE PROTEÍNAS RECUPERADAS POR CLASE
3,69
3,0
13,02
44,87
28,91
9,81
22,9
36,01
10,71
13,55
21,21
22,4
20,88
18,99
21,31
65,29
51,7
30,10
25,43
36,22
> 30kDa
30 kDa > X > 10 kDa
10kDa > X > 3kDa
<3kDa

Figura 11:


U14 AM
Intens.
mUA
A
PLC1011 FLAV SIN R+GULE AGUA UF3 INJ7 D: UV Chromatogram, 215 nm
400
300
200
100
0
x10^7
B
PLC1011 FLAV SIN R+GULE AGUA UF3 INJ7 D: BPC 60-600 +All MS
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
x10^6
C
PLC1011 FLAV SIN R+GULE AGUA UF3 INJ7 D: EIC 187 +All MS
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
5,0
7,5
10,0
12,5
15,0
17,5
20,0
22,5
25,0
Tiempo (min)