

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 296**

51 Int. Cl.:

A61K 38/10	(2006.01)
A61K 38/17	(2006.01)
A61K 38/16	(2006.01)
A61P 13/08	(2006.01)
A61K 9/19	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)
A61K 38/45	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2014 PCT/KR2014/010035**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.04.2015 WO15060673**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2014 E 14856726 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 3061459**

54 Título: **Composición para tratar y prevenir la hiperplasia prostática benigna**

30 Prioridad:

23.10.2013 KR 20130126666

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.07.2020

73 Titular/es:

**GEMVAX & KAEL CO., LTD. (50.0%)
58, Techno 11-ro, Yuseong-gu
Daejeon 34036, KR y
KIM, SANG JAE (50.0%)**

72 Inventor/es:

KIM, SANG JAE

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 773 296 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición para tratar y prevenir la hiperplasia prostática benigna

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una composición para el tratamiento y prevención de la hiperplasia prostática benigna. Más en particular, la presente invención se refiere a la composición que comprende un péptido derivado de telomerasa y la composición es para el tratamiento y prevención de la hiperplasia prostática benigna.

Antecedentes

10 La hiperplasia prostática benigna (BPH) es la enfermedad masculina relacionada con la edad más común que está acompañada de síntomas del tracto urinario inferior. Los síntomas relacionados comienzan a aparecer a partir de los 40 años, pero los síntomas más clínicos aparecen a fines de los 50 años. La BPH puede causar disfunción sexual por la reducción de la calidad de vida, y el tratamiento y la cirugía para la BPH pueden afectar la función sexual.

15 La hiperplasia que causa la BPH es dependiente de las hormonas masculinas. Especialmente las hormonas masculinas son necesarias para la proliferación celular normal en la próstata, así como para la inhibición de la apoptosis normal. La causa endógena más conocida es el envejecimiento. La próstata se agranda con el envejecimiento y la función normal de los testículos. Como la hormona masculina de la que depende la próstata, la testosterona desempeña un papel importante en el crecimiento y la diferenciación de la próstata y se metaboliza mediante la 5-alfa-reductasa para producir dihidrotestosterona (DHT), que desempeña un papel importante en el crecimiento de la próstata y la expresión de los genes de la próstata.

20 Como causas exógenas del crecimiento de la próstata, existen hormonas masculinas, estrógenos, glucocorticoides y materiales relacionados con las enzimas de secreción interna que son inducidos por la dieta y las circunstancias. Los efectos fisiológicos de estas causas exógenas aparecen a través de muchas clases de péptidos del factor de crecimiento.

25 La BPH se produce desde el principio de los 20 años hasta fines de los 40 años causada por cambios histológicos cuando las hormonas masculinas y el estrógeno trabajan sinérgicamente para inducir la BPH. Con el aumento de la edad, aumenta la tasa de estrógeno/DHT y luego también la BPH.

Además, en general es sabido que la próstata crece hasta el principio de los 20 años y después mantiene su tamaño hasta los 50 años, y el mantenimiento del equilibrio de la próstata depende de una interacción muy complicada, tal como de factores de crecimiento endógeno, vía de señalización, regulación de los ciclos celulares, división celular y apoptosis. Si se produce una transformación en los factores de regulación del ciclo celular, se puede inducir la BPH.

30 El factor genético puede ser un factor principal que afecte la BPH. Se ha informado que los pacientes con antecedentes familiares de BPH han mostrado un aumento de la BPH en más del 60%, y también se ha informado que el tratamiento con el inhibidor de la 5 α -reductasa es menos eficaz en un grupo de pacientes que tienen antecedentes familiares de BPH. Esto se debe a que, en tales casos, la BPH depende de una vía no dependiente de andrógenos.

35 Para tratar la BPH, se pueden usar cirugía y tratamiento médico. Para el tratamiento médico, la administración de fármacos se ajusta según la edad y el progreso clínico de un paciente. Recientemente, el número de pacientes con BPH ha aumentado significativamente en Corea y en todo el mundo y la tasa de enfermedad en pacientes jóvenes también ha aumentado. Se usan varios fármacos para el tratamiento, pero sus usos son limitados por sus efectos secundarios.

40 La sulpirida es un antagonista del receptor de dopamina de tipo 2, que se usa comúnmente como un fármaco para el tratamiento de la depresión. La dopamina, como producto intermedio producido en la vía de síntesis de adrenalina y noradrenalina, es un neurotransmisor inhibitorio. La sulpirida inhibe la unión de la dopamina y su receptor, lo que inhibe la secreción de prolactina como efecto dopaminérgico y eleva la concentración de prolactina en la sangre. El aumento de prolactina por la administración continua de sulpirida induce la hiperprolactinemia.

45 Se informa que la prolactina está relacionada con la proliferación de la próstata, el cáncer de próstata y el desarrollo y la regulación de la BPH. También es sabido que la prolactina junto con los andrógenos eleva la proliferación de la próstata. Como otro mecanismo, también es sabido que la prolactina actúa como una hormona del estrés para elevar la expresión de la 5 α -reductasa e induce la proliferación de la próstata. La prolactina, que es uno de los factores no esteroideos, se relaciona con la proliferación de la próstata y la inducción de la BPH. Con la edad, la prolactina aumenta, pero el nivel de testosterona disminuye. Se informa que la prolactina induce la BPH en seres humanos de edad avanzada. Para ratas y seres humanos, se informa que la prolactina está involucrada en la proliferación y diferenciación de la próstata. De acuerdo con este informe, se considera que la prolactina es inducida por receptores a través de vías de transducción de señales.

[Documento de la técnica anterior]

[Documento de patente]

KR 2011-0062943 A

KR 2011-0057049 A

EP 1020190 A3

5 [Documento no de patente]

MCCONN ELL, John D., *et al.* 'The effect of finasteride on the risk of acute urinary retention and the need for surgical treatment among men with benign prostatic hyperplasia', *New England Journal of Medicine*, 1998, Vol. 338, No. 9, pp. 557-563.

Descripción detallada de la invención

10 Problema técnico

Por lo tanto, los inventores de la presente han intentado desarrollar una composición para el tratamiento y prevención de la BPH que tenga un efecto secundario mínimo y un efecto de tratamiento superior, y han completado la presente invención.

15 Los inventores de la presente han descubierto que el péptido derivado de la telomerasa puede tener excelentes efectos para el tratamiento y prevención de la BPH y han completado la presente invención.

El objeto de la presente invención es proporcionar una composición que tenga un efecto en el tratamiento y prevención de la BPH.

Soluciones para el problema

20 Para resolver el problema técnico mencionado anteriormente, de acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición para tratar y prevenir la BPH que incluye el péptido o el fragmento activo del péptido que comprende una secuencia de SEQ ID NÚM.: 1 (en adelante, "PEP1", "GV1001" o "GV") o una secuencia que tiene una homología de 80% o más de la SEQ ID NÚM.: 1.

En la composición para tratar y prevenir la BPH de acuerdo con la presente invención, dicho fragmento puede comprender 3 o más aminoácidos.

25 En la composición para tratar y prevenir la BPH de acuerdo con la presente invención, el péptido puede estar comprendido en la concentración de 0,01 mg a 1 mg, preferentemente 0,56 mg (4 nmol de péptido /kg de peso corporal).

En la composición para tratar y prevenir la BPH de acuerdo con la presente invención, la composición puede ser una composición farmacéutica.

30 En la composición para tratar y prevenir la BPH de acuerdo con la presente invención, la composición puede ser una composición alimenticia.

De acuerdo con otra realización de la presente invención, se proporciona el procedimiento para tratar y prevenir la BPH por la administración de la composición para tratar y prevenir la BPH en un individuo necesitado de dicho tratamiento.

35 En el procedimiento para tratar y prevenir la BPH de acuerdo con la presente invención, la administración de la composición se puede realizar 3 veces por semana.

Efecto de la invención

40 La composición de acuerdo con la presente invención que comprende el péptido que tiene la secuencia de SEQ ID NÚM.: 1 o la secuencia de 80% o más de homología del mismo, tiene un efecto excelente para tratar y prevenir la BPH con menos efectos secundarios.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 representa una fotografía de un procedimiento para extracción de los órganos diana para medir su peso.

45 La Fig. 2 representa una fotografía de una electroforesis, en el experimento para verificar el efecto del PEP1 en el tratamiento de la BPH, que muestra el resultado del efecto de la expresión de la 5 α -reductasa en la próstata ventral de cada grupo experimental mediante el uso de RT-PCR.

La Fig. 3 representa un gráfico, en el experimento para verificar el efecto del PEP1 en el tratamiento de la BPH, que

muestra el resultado del peso medido de la vesícula seminal en cada grupo experimental.

La Fig. 4 representa un gráfico, en el experimento para verificar el efecto del PEP1 en el tratamiento de la BPH, que muestra el resultado del peso medido de la próstata en cada grupo experimental.

5 La Fig. 5 representa un gráfico que muestra la cantidad de proliferación celular en la línea celular del estroma del modelo animal con BPH inducida (WPMY-1) que se trató con PEP1.

La Fig. 6 representa un gráfico que muestra la cantidad de proliferación celular en la línea celular epitelial del modelo animal con BPH inducida (RWPE-1) que se trató con PEP1.

10 La Fig. 7 representa un gráfico que muestra la capacidad de unión de PEP1 al receptor de andrógenos medida mediante el uso del conjugado de PEP1-FITC (isotiocianato de fluoresceína) en la línea celular del estroma del modelo animal con BPH inducida (WPMY-1).

La Fig. 8 representa un gráfico que muestra la capacidad de unión de PEP1 al receptor de andrógenos medida mediante el uso del conjugado de PEP1-FITC (isotiocianato de fluoresceína) en la línea celular epitelial del modelo animal con BPH inducida (RWPE-1).

15 La Fig. 9 representa una fotografía de una electroforesis que muestra el efecto del PEP1 en la expresión de PCNA (antígeno nuclear de células en proliferación), que se aumenta en el modelo BPH inducida.

La Fig. 10 representa una fotografía de inmunotinción que muestra el efecto del PEP1 en la expresión de Ki67 (MK67), que se aumenta en el modelo de BPH inducida cuando se induce la BPH.

La Fig. 11 representa una fotografía de los resultados, que muestran el efecto del PEP1 sobre las células relacionadas con los tejidos de BPH en el experimento de modelos animales con BPH por el procedimiento de tinción H&E.

20 La Fig. 12 representa una fotografía de los resultados, que muestran el efecto del PEP1 en las células relacionadas con el tejido de BPH en el experimento de modelos animales con BPH por el procedimiento de tinción tricrómica de Masson.

La Fig. 13 representa un gráfico que muestra el cambio de pesos corporales de los animales en el experimento para medir el efecto del PEP1 en el modelo animal con BPH.

25 La Fig. 14 representa un gráfico que muestra el cambio de los pesos de la próstata de los modelos animales en el experimento para medir el efecto del PEP1 en el modelo animal con BPH.

La Fig. 15 representa un gráfico que muestra el cambio de los pesos de las vesículas seminales de los animales en el experimento para medir el efecto del PEP1 en el modelo animal con BPH.

Mejor modo de examen de la invención

30 Debido a que la presente invención se puede adaptar a diversos campos de uso y con diversas modificaciones, las siguientes son descripciones más detalladas de la presente invención. Sin embargo, esto no limita bajo ningún concepto la forma de aplicación práctica; se debe entender que la intención es incluir el concepto y el alcance de la tecnología en todas las modificaciones, equivalentes a las alternativas. Al describir la presente invención, si se considera que cualquier descripción detallada sobre la técnica anterior deteriora los principios fundamentales de la presente invención, se omitirá la descripción.

40 El telómero es conocido como una secuencia repetitiva de material genético que se encuentra en los extremos de los cromosomas que evita que los cromosomas se dañen o se fusionen con otros cromosomas. La longitud del telómero se acorta en cada división celular, y después de un cierto número de divisiones celulares, la longitud del telómero se acorta extremadamente en la medida en que la célula se deja de dividir y muere. Por otro lado, es sabido que el alargamiento de los telómeros extiende la vida útil de una célula. Por ejemplo, las células cancerosas excretan una enzima denominada telomerasa, que previene el acortamiento de los telómeros, de este modo causando la proliferación de células cancerosas. Los inventores de la presente invención han identificado que un péptido derivado de la telomerasa es eficaz en el tratamiento y prevención de la BPH y han completado la presente invención.

45 En una realización de la presente divulgación, un péptido de una secuencia de aminoácidos SEQ ID NÚM.: 1, un fragmento de péptido activo del péptido mencionado anteriormente o un péptido activo que tiene una identidad de secuencia de 80% o más con la secuencia de aminoácidos del péptido mencionado anteriormente comprende telomerasa, en particular, telomerasa derivada del Homo sapiens. Los péptidos desvelados en la presente memoria pueden incluir péptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos de al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% de homología de secuencia con el péptido de la SEQ ID NÚM.: 1 o un fragmento del mismo. Además, los péptidos desvelados en la presente invención pueden incluir péptidos que tienen diferencias de la SEQ ID NÚM.: 1 o un fragmento del mismo en al menos un aminoácido, al menos 2 aminoácidos, al menos 3 aminoácidos, al menos 4 aminoácidos, al menos 5 aminoácidos

transformados, al menos 6 aminoácidos transformados, o al menos 7 aminoácidos.

En una realización de la presente invención, los cambios en los aminoácidos incluyen modificaciones de las características físicas y químicas del péptido. Por ejemplo, la modificación de aminoácidos se puede realizar para mejorar la estabilidad térmica del péptido, alterar la especificidad del sustrato y cambiar el pH óptimo.

5 El término "aminoácido" en la presente memoria incluye no solo los 22 aminoácidos estándares que se integran naturalmente en un péptido sino también los isómeros D y los aminoácidos modificados. Por lo tanto, en una realización específica de la presente invención, un péptido de la presente memoria incluye un péptido que tiene aminoácidos D. Además, un péptido puede incluir aminoácidos no estándares como los que se han modificado postraduccionalmente. Los ejemplos de modificación postraducciona

10 l incluyen fosforilación, glicosilación, acilación (que incluyen acetilación, miristilación, palmitoilación), alquilación, carboxilación, hidroxilación, glicación, biotilación, ubiquitinilación, modificación de propiedades químicas (por ejemplo, desimidación por β -eliminación, desamidación) y modificación estructural (por ejemplo, formación de puente disulfuro). Además, los cambios de aminoácidos incluyen los cambios de aminoácidos que se producen debido a la reacción química durante el procedimiento de combinación con los agentes de reticulación para la formación de un conjugado peptídico, tal como cambios en un grupo amino, grupo

15 carboxilo o cadena lateral.

Un péptido desvelado en la presente memoria puede ser un péptido de tipo salvaje que se ha identificado y aislado de fuentes naturales. Mientras tanto, en comparación con la SEQ ID NÚM.: 1 o sus fragmentos, los péptidos desvelados en la presente memoria pueden ser variantes artificiales que comprenden uno o más aminoácidos sustituidos, suprimidos y/o insertados. La alteración de aminoácidos en polipéptidos de tipo salvaje, no solo en variantes artificiales, comprende el plegado de proteínas y/o sustituciones conservadoras de aminoácidos que no influyen significativamente en las actividades. Los ejemplos de sustituciones conservadoras pueden estar dentro de los grupos de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparaginas), aminoácidos hidrófobos (leucina, isoleucina, valina y metionina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina y

20 treonina). Las sustituciones de aminoácidos que generalmente no alteran las actividades específicas son conocidas en la técnica. Las alteraciones más comunes son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly, y sus alteraciones opuestas. Otros ejemplos de sustituciones conservadoras se muestran en la siguiente Tabla 1:

25

Aminoácido original	Ejemplos de sustitución de residuos	Sustitución de residuos preferente
Ala (A)	val; leu; ile	Val
Arg (R)	lys; gln; asn	Lys
Asn (N)	gln; his; asp, lys; arg	Gln
Asp (D)	glu; asn	Glu
Cys (C)	ser; ala	Ser
Gln (Q)	asn; glu	Asn
Glu (E)	asp; gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	Arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucina	Leu
Leu (L)	norleucina; ile; val; met; ala; phe	Ile
Lys (K)	arg; gln; asn	Arg
Met (M)	leu; phe; ile	Leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser

Aminoácido original	Ejemplos de sustitución de residuos	Sustitución de residuos preferente
Trp (W)	tyr; phe	Tyr
Tyr (Y)	trp; phe ; thr; ser	Phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucina	Leu

5 La transformación sustancial de las propiedades biológicas de los péptidos se realiza mediante la selección de una sustitución significativamente diferente en las siguientes eficacias: (a) la eficacia en el mantenimiento de la estructura de la cadena principal del polipéptido en el área de sustitución, tal como las estructuras tridimensionales de hoja o helicoidales, (b) la eficacia en el mantenimiento de la carga eléctrica o la hidrofobicidad de la molécula en el área diana, o (c) la eficacia en el mantenimiento de la cantidad a granel de la cadena lateral.

Los residuos naturales se dividen en grupos por las propiedades generales de la cadena lateral de la siguiente manera:

(1) hidrofobicidad: norleucina, met, ala, val, leu, ile;

(2) hidrofiliidad neutra: cys, ser, thr;

10 (3) acidez: asp, glu;

(4) alcalinidad: asn, gin, his, lys, arg;

(5) residuo que afecta la orientación de la cadena: gly, pro; y

(6) aromaticidad: trp, tyr, phe.

15 Las sustituciones no conservadoras se pueden realizar mediante el intercambio de un miembro de las clases anteriores por el de una clase diferente. Cualquier residuo de cisteína que no esté relacionado con el mantenimiento de la estructura tridimensional adecuada del péptido se puede sustituir típicamente en serina, de este modo aumentando la estabilidad oxidativa de la molécula y evitando la reticulación inadecuada. Por el contrario, la mejora de la estabilidad se puede lograr mediante la adición de enlaces de cisteína al péptido.

20 Otro tipo de variantes de aminoácidos de péptidos son las que tienen un patrón cambiado de glicosilación de péptidos. El término "cambio" en la presente memoria significa la supresión de al menos un residuo de carbohidrato que se encuentra en un péptido y/o la adición de al menos un residuo glicosilado que no existe dentro de un péptido.

25 La glicosilación en péptidos está típicamente unida a N o unida a O. El término "unido a N" en la presente memoria se refiere a que los residuos de carbohidratos están unidos a la cadena lateral de los residuos de asparagina. Como secuencias de tripéptidos, la asparagina-X-serina y la asparagina-X-treonina (en las que la X es cualquier aminoácido excepto prolina) son una secuencia de reconocimiento para unir enzimáticamente un residuo de carbohidrato a la cadena lateral de la asparagina. Por lo tanto, con la presencia de una de estas secuencias de tripéptidos en un polipéptido, se crean los posibles sitios de glicosilación. "Glicosilación unida a O" significa unir uno de N-acetilgalactosamina de azúcar, galactosa o xilosa a aminoácidos de hidroxilo. Los aminoácidos de hidroxilo son más típicamente serina o treonina, pero se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

30 La adición de un sitio de glicosilación a un péptido se realiza convenientemente mediante el cambio de una secuencia de aminoácidos para contener una secuencia de tripéptidos mencionada anteriormente (para sitios de glicosilación unidos a N). Estos cambios se pueden realizar mediante la adición de al menos uno de los residuos de serina o treonina a la primera secuencia de anticuerpos, o mediante sustitución con estos residuos (para sitios de glicosilación unidos a O).

35 Además, el péptido de acuerdo con la presente invención que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NÚM.: 1, el péptido comprende la secuencia de aminoácidos que tiene más de 80% de homología con la secuencia mencionada anteriormente, o los fragmentos del péptido mencionado anteriormente tienen la ventaja de baja toxicidad y alta estabilidad en la materia viva. La SEQ ID NÚM.: 1, como se usa en la presente memoria, es un péptido derivado de la telomerasa compuesto de 16 aminoácidos.

40 SEQ ID NÚM.: 1 EARPALLTSRLRFIPK

Una realización de la presente invención proporciona la composición para tratar y prevenir la BPH que comprende el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NÚM.: 1, el péptido comprende la secuencia de aminoácidos que tiene más de 80% de homología con la secuencia mencionada anteriormente o fragmentos del péptido mencionado anteriormente.

45 En una realización de la presente invención, la composición puede tener aplicaciones en todos los animales, que

incluyen seres humanos, perros, pollos, cerdos, vacas, ovejas, cobayos y monos.

5 En una realización de la presente invención se proporciona la composición farmacéutica para tratar y prevenir la BPH que comprende el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NÚM.: 1, el péptido comprende la secuencia de aminoácidos que tiene más de 80% de homología con la secuencia mencionada anteriormente, o fragmentos del péptido mencionado anteriormente. La composición farmacéutica de acuerdo con una realización de la presente invención se puede administrar por vía oral, rectal, transdérmica, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, en la médula ósea, epidural o subcutánea.

10 Las formas de administración orales pueden ser, pero sin limitación, comprimidos, píldoras, cápsulas blandas o duras, gránulos, polvos, solución o emulsión. Las formas de administración no orales pueden ser, pero sin limitación, inyecciones, goteos, lociones, ungüentos, geles, cremas, suspensiones, emulsiones, supositorios, parches o sprays.

En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica, si es necesario, puede contener aditivos, tal como diluyentes, excipientes, lubricantes, aglutinantes, desintegrantes, tampones, dispersantes, tensioactivos, agentes colorantes, aromáticos o edulcorantes. En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica se puede fabricar mediante procedimientos convencionales de la industria en la técnica.

15 En una realización de la presente invención, la dosis del ingrediente activo de la composición médica puede variar de acuerdo con la edad, sexo, peso, patología y estado del paciente, vía de administración o criterio del profesional médico. La dosis basada en estos factores se puede determinar dentro de los niveles de los expertos en la técnica, y la dosis diaria, por ejemplo, puede ser, pero sin limitación, de 0,01 µg/kg/día a 10 g/kg/día, específicamente 0,1 µg/kg/día a 1 mg/kg/día, más específicamente de 1 µg/kg/día a 0,1 g/kg/día, más específicamente 1 µg/kg/día a 10 mg/kg/día, preferentemente 50 µg/kg/día a 1 mg/kg/día, preferentemente 0,005 mg/kg/día a 0,05 mg/kg/día, con máxima preferencia 0,01 mg/kg/día, pero se puede ajustar si existen diferencias de efecto de acuerdo con la dosis de administración. Para un adulto, es preferente que la dosis para la administración sea de 0,1 mg a 1 mg, preferentemente 0,4 mg a 0,6 mg, en especial es de máxima preferencia la dosis de 0,56 mg.

25 En una realización de la presente invención, la composición farmacéutica se puede administrar, pero sin limitación, 1 a 3 veces por día.

30 En una realización de la presente invención, la composición puede contener 0,01 g/L a 1 kg/L, específicamente 0,1 g/L a 100 g/L, más específicamente 1 g/L a 10 g/L de un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos una de la SEQ ID NÚM.: 1, un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 80% de homología de secuencia con las secuencias mencionadas anteriormente, o un fragmento de los mencionados anteriormente. Cuando el péptido está contenido en los intervalos mencionados anteriormente, se puede cumplir tanto con la seguridad como con la estabilidad de la composición y los intervalos son adecuados en términos de rentabilidad.

35 En una realización de la presente invención se proporciona la composición alimenticia para tratar y prevenir la BPH que comprende el péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NÚM.: 1, el péptido comprende la secuencia de aminoácidos que tiene más de 80% de homología con la secuencia mencionada anteriormente, o fragmentos del péptido mencionado anteriormente.

En una realización de la presente invención, la composición alimenticia no se limita a formas específicas, sino que, por ejemplo, pueden ser comprimidos, gránulos, polvo, formas líquidas y sólidas. Cada forma se puede formar con ingredientes comúnmente usados en la industria seleccionados adecuadamente por los expertos en la técnica, además del ingrediente activo, y puede producir un efecto sinérgico en combinación con otros ingredientes.

40 Los términos usados en la presente memoria están destinados a usarse para describir las realizaciones, no para limitar la presente invención. Los términos sin números por delante no pretenden limitar la cantidad, sino mostrar que puede haber más de una unidad del término usado. Los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye" y "que contiene" se interpretan abiertamente (es decir, "que incluyen pero sin limitación").

45 La razón por la que los valores numéricos se mencionan como intervalos es solo porque es conveniente describir en intervalos en lugar de en números individuales. A menos que se indique lo contrario, cada valor numérico individual se debe entender como descrito individualmente e integrado en la memoria descriptiva. Se incluyen umbrales en todos los intervalos y se pueden combinar de forma independiente.

50 A menos que se indique lo contrario o se contradiga claramente en contexto, todos los procedimientos mencionados en la presente memoria se pueden realizar en un orden adecuado. El uso de cualquier realización y todas las realizaciones, o frase ejemplificativa (por ejemplo, "tal como", "similar a"), a menos que se incluya en las reivindicaciones, se usa para describir más claramente la presente invención, no para limitar el ámbito de la presente invención. Cualquier frase de la presente memoria fuera de las reivindicaciones no se debe interpretar como una necesidad de la presente invención. A menos que se defina lo contrario, los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen significados entendidos normalmente por una persona experta en la técnica a la que pertenece la presente invención.

Las realizaciones preferidas de la presente invención incluyen el mejor modo conocido por los inventores para realizar

la presente invención. Las variaciones en las realizaciones preferidas pueden aclararse para los expertos en la técnica después de leer las declaraciones anteriores. Los inventores de la presente esperan que los expertos en la técnica puedan usar las variaciones de manera adecuada y que la presente invención se lleve a cabo de otras maneras distintas a las enumeradas en la presente memoria.

5 Realizaciones para establecer la presente invención

En adelante, la presente divulgación se describirá en detalle a través de ejemplos y ejemplos de prueba. Sin embargo, los siguientes ejemplos y ejemplos de prueba son solo para fines ilustrativos y será evidente para los expertos en la técnica que el ámbito de la presente divulgación no está limitado por los ejemplos y ejemplos de prueba.

EJEMPLO 1: Síntesis de un péptido

10 El péptido de la SEQ ID NÚM.: 1 se sintetizó de acuerdo con el procedimiento convencionalmente conocido de síntesis de péptidos en fase sólida. Más específicamente, el péptido se sintetizó mediante el acoplamiento de cada aminoácido del extremo terminal C a través de la síntesis de péptidos en fase sólida Fmoc, SPPS, usando ASP48S (Peptron, Inc., Daejeon ROK). Dichos péptidos con su primer aminoácido en el extremo terminal C unido a una resina se usaron de la siguiente manera:

15 Resina de NH₂-Lys(Boc)-2-cloro-tritilo

Resina de NH₂-Ala-2-cloro-tritilo

Resina de NH₂-Arg(Pbf)-2-cloro-tritilo

20 Todos los aminoácidos para sintetizar el péptido estaban protegidos por Fmoc en el extremo terminal N, y los residuos de aminoácidos estaban protegidos por Trt, Boc, t-Bu (t-butiléster), Pbf (2,2,4,6,7-pentametil dihidro-benzofuran-5-sulfonilo) que se puede disolver en un ácido. Los ejemplos incluyen los siguientes:

Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Ahx-OH, Trt-ácido mercaptoacético.

25 HBTU [hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3- tetametilaminio]/HOBt [N-hidroxibenzotriazol]/NMM [4-metilmorfolina] se usaron como reactivos de acoplamiento. La piperidina en DMF al 20% se usó para eliminar Fmoc. Para eliminar la protección de los residuos o separar los péptidos sintetizados de la resina, se usó el cóctel de escisión [TFA (ácido trifluoroacético)/TIS (trisopropilsilano)/EDT (etanoditiol)/H₂O = 92,5/2,5/2,5/2,5].

30 La síntesis de péptidos se realizó usando un armazón de fase sólida con la repetición de los siguientes procedimientos: comenzando con la protección de aminoácidos, reacción separada de cada aminoácido, lavado con disolventes y desprotección. Cada péptido se sintetizó usando el armazón de fase sólida combinado con el aminoácido de partida con la protección de aminoácidos, la reacción de los aminoácidos correspondientes por separado, el lavado con un disolvente y la desprotección y, la repetición de los procedimientos. Tras la liberación de la resina, los péptidos sintetizados se purificaron por HPLC, se validaron por espectrometría de masas, y se liofilizaron, y se verificó la síntesis por MS, y después se liofilizaron.

35 Se halló que la pureza del péptido preparado era de 95% o superior por cromatografía líquida de alta resolución.

El procedimiento de síntesis específico de PEP 1 puede ser de la siguiente manera:

1) Acoplamiento

40 El aminoácido (8 equivalentes) protegido con resina de NH₂-Lys(Boc)-2-cloro-tritilo, y el agente de acoplamiento HBTU (8 equivalentes)/HOBt (8 equivalentes)/NMM (16 equivalentes) fundidos en DMF se mezclaron en conjunto, y se incubaron a temperatura ambiente (TA) durante 2 h. Después de la incubación, la mezcla de reacción se sometió a lavados secuenciales con DMF, MeOH, y DMF.

2) Desprotección de Fmoc

Se añadió piperidina en DMF al 20% y se incubó a TA durante 5 minutos 2 veces, después se lavó secuencialmente con DMF, MeOH y DMF.

45 3) Fabricación de la estructura básica del péptido, resina de NH₂-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-PK(Boc)-2-cloro-tritilo mediante la repetición de las reacciones 1) y 2) mencionadas anteriormente.

4) Escisión: se añadió cóctel de escisión al péptido completamente sintetizado, de este modo separando el péptido sintetizado de la resina.

5) Se añadió éter dietílico preenfriado a la mezcla obtenida, y después se usó centrifugación para precipitar el péptido

recogido.

6) Después de la purificación por HPLC preparativa, el peso molecular se confirmó por LC/MS y se liofilizó para producir en forma de polvo.

EJEMPLO 2: Verificación del efecto del PEP1 en la BPH mediante el experimento por el uso de modelo animal con BPH inducida

1) Preparación de modelo animal con BPH inducida

Como andrógeno, la hormona más comúnmente usada en el cuerpo es la testosterona. Pero la hormona más potente de los andrógenos relacionada con el desarrollo de la próstata es la 5 α -dihidrotestosterona (DHT), que se produce mediante la combinación de testosterona y 5 α -reductasa. En ratas, cuando se administra sulpirida durante 30 días en la concentración de 40 mg/kg, se inhibe el receptor de dopamina de tipo 2 para aumentar la concentración de prolactina en el cuerpo e inducir la hiperprolactinemia para activar la 5 α -reductasa y se muestra el efecto sinérgico al reaccionar con testosterona. Se informa que la DHT producida por hiperprolactinemia aumenta más de peso en el lóbulo lateral que en el lóbulo dorsal o el lóbulo ventral de la próstata. Sobre la base de esto, el experimento que usa PEP1 de acuerdo con el ejemplo 1 sólo o en coadministración con otro material de prueba al modelo animal con BPH inducida se realizó de la siguiente manera. Se adquirieron ratas macho Sprague-Dawley maduras (6 semanas de edad) de Jae-il Experimental Animal Center y se criaron una semana (7 semanas de edad, 49 días) para purificación, y después se usaron para el experimento. Para inducir la BPH, se administró sulpirida (40 mg/kg) por vía oral una vez al día durante 30 días. Cada experimento siguió el resultado del experimento anterior (Van Coppenolle *et al.*, 2001). La administración de los materiales de prueba comenzó a las 10 a.m. para cada animal. Después de administrar los materiales de prueba, se observó el estado general y los síntomas especiales de cada animal todos los días. Antes de administrar los materiales de prueba, también se midieron y registraron los pesos corporales de cada animal.

2) Materiales de prueba y dosis de administración

Se adquirió sulpirida como material de prueba de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) y se usó para el experimento. Los inventores hacen que la sulpirida (40 mg/kg) se administre una vez al día durante 60 días mediante inyección intraperitoneal en forma secuencial para inducir la BPH por hiperprolactinemia. La sulpirida se disolvió primero en la solución de HCl 0,1 N y después se neutralizó a pH 7,0 mediante el uso de la solución de NaOH 0,1 N cada vez antes de administrar los materiales de prueba. Para el grupo de coadministración, se administró PEP1 de acuerdo con el ejemplo 1 y finasterida después de la administración de sulpirida mediante inyección intraperitoneal. PEP1 (0,01, 0,1, 1 y 10 mg/kg) se prepara inmediatamente antes de usar y se administra por inyección subcutánea. La finasterida se preparó usando 15% de etanol/aceite de maíz (v/v) como vehículo todos los días. La dosis de administración se calculó en base a la concentración de 0,5 ml/kg, lo que refleja el peso corporal medido todos los días. La administración se realizó a 7 grupos, cada uno como se indica en la Tabla 2 para verificar el efecto del PEP1 en la BPH.

[Tabla 2]

Grupo	Uso	Vía	Dosis
1	Solo vehículo	s.c	0,5 ml/kg/día
2	sulpirida: 40 mg/kg/día	i.p	0,5 ml/kg/día
3	PEP1 (0,01 mg/kg, s.c.) + sulpirida (40 mg/kg/día, i.p.)	s.c	0,5 ml/kg/día
4	PEP1 (0,1 mg/kg, s.c.) + sulpirida (40 mg/kg/día, i.p.)	s.c	0,5 ml/kg/día
5	PEP1 (1 mg/kg, s.c.) + sulpirida (40 mg/kg/día, i.p.)	s.c	0,5 ml/kg/día
6	PEP1 (10 mg/kg, s.c.) + sulpirida (40 mg/kg/día, i.p.)	s.c	0,5 ml/kg/día
7	finasterida (10 mg/kg, oral) +sulpirida (40 mg/kg/día, i.p.)	s.c	0,5 ml/kg/día

(i.p = intraperitoneal, s.c = subcutánea)

35

1) Para el modelo con BPH inducida, después del experimento de administración de PEP1 y los materiales de prueba, se recolectan los órganos de animales, se conservan y se mide su peso

24 horas después de administrar los materiales de prueba durante 60 días, todos los animales se anestesiaron con éter y después su sangre recogida de la aorta abdominal se separó y se obtuvo el suero. El suero separado se conservó a -80 °C para analizar la hormona.

Para todos los animales, después de probar la existencia de separación del prepucio (PPS), las glándulas reproductoras accesorias tal como glándula peneana (Gp), vesículas seminales y glándulas coagulantes (SV), próstata ventral (VP), glándula de cowpers (CpG), músculo bulbocavernoso elevador del ano (LABC), se separaron secuencialmente del cuerpo. El procedimiento de separación detallado siguió el protocolo de la OECD.

Para la separación de Gp, como se menciona en la Fig. 1, sujetar la sección de Gp usando pinzas y cortar la línea de separación del prepucio. Para un pulmón, como se menciona en la Fig. 1, después de separar la vejiga de la capa muscular abdominal, exponer los lóbulos izquierdos y derechos del pulmón revestidos por la capa lipídica, mostrar la vejiga en el SV, separar el lípido de los lóbulos izquierdos y derechos del pulmón usando pinzas, cortar el lóbulo izquierdo del pulmón de la uretra después de tirar usando micro pinzas, y cortar el lóbulo derecho del pulmón después de la exposición desde la uretra usando pinzas. Para la SV que comprende la glándula coagulante, como se menciona en la Fig. 1, preparar toallas de papel debajo de la SV para clasificar el músculo, la capa lipídica y las glándulas. Fijar la base de la SV que comprenden tubos seminíferos conectados con la uretra mediante el uso de pinzamiento para evitar fugas durante la extracción de las vesículas seminales. Después de eliminar el lípido, limpiar los órganos accesorios relacionados, retirar el pinzamiento y colocar las vesículas seminales en la placa para medir su peso.

2) El efecto de la administración de PEP1 en la expresión de la 5 α -reductasa en el modelo animal de prueba con BPH inducida

Después de administrar sulpirida con los materiales de prueba durante 60 días y recolectar la próstata ventral, se midió el efecto sobre la expresión de la 5 α -reductasa usando RT-PCR. Específicamente, el ARN total se separó de la próstata ventral (25 mg) y se resuspendió mediante la adición de agua tratada con DEPC. Después, se cuantificó el ARN usando un espectrofotómetro. La primera cadena de ADNc se sintetizó mediante los procedimientos de Torres and Ortega (2004). El perfil de PCR tenía desnaturalización a 94 °C (30 segundos), apareamiento a 55 °C (30 segundos), extensión a 72 °C (30 segundos) y 30-35 tiempos de ciclo. Para el control de la cuantificación en electroforesis, se usó GAPDH cuyo nivel de expresión no se modifica con otros fármacos. Como resultado, el nivel aumentado de la 5 α -reductasa por la administración de sulpirida se inhibió en el grupo de administración de PEP1 dependiente de la dosis y el efecto inhibitor en el grupo de administración de dosis altas de PEP1 (GV 10, el grupo de administración de PEP1 en 10 mg) fue mayor que el grupo de administración de finasterida (véase la Fig. 2). Por lo tanto, PEP1 puede proporcionar el tratamiento dependiente de la dosis y el efecto de mejora de la BPH mediante la inhibición de la 5 α -reductasa.

3) El efecto de la administración de PEP1 a los órganos del modelo animal de prueba con BPH inducida

En la Tabla 3 a continuación, se informa el efecto del péptido PEP1 sobre el peso de la vesícula seminal, el peso de la próstata y el índice de la próstata en cada grupo de experimento. El índice de la próstata descrito en la Tabla 3 se calculó mediante el uso de la ecuación de "peso corporal/peso de próstata final".

[Tabla 3]

Grupo	Uso	Peso de la vesícula seminal (g)	Peso de la próstata (g)	Índice de la próstata
1	Control	0,84±0,06	0,65±0,05	0,206
2	Sulpirida 40 mg/kg 60 días	1,23±0,11	1,59±0,05	0,303
3	Sulpirida 40 mg/kg 60 días + PEP1 0,01 mg/kg	0,97±0,07	1,13±0,07	0,208
4	Sulpirida 40 mg/kg 60 días + PEP1 0,1 mg/kg	1,03±0,12	1,32±0,05	0,265
5	Sulpirida 40 mg/kg 60 días + PEP1 1,1 mg/kg	0,81 ±0,04	0,94±0,08	0,198
6	Sulpirida 40 mg/kg 60 días + PEP1 10 mg/kg	0,41 ±0,03	0,57±0,05	0,132
7	Sulpirida 40 mg/kg 60 días + Finasterida 5 mg/kg	0,49±0,02	0,75±0,06	0,157

El resultado que se describió en la Tabla 3 se convirtió en un gráfico, es decir, la observación del resultado de la medición de las vesículas seminales después de la administración de PEP1 y finasterida (5 mg/kg) en animales con BPH inducida seguido de la administración de sulpirida, y el gráfico muestra que el peso de la vesícula seminal en el caso de la administración de dosis altas de PEP1 (10 mg/kg) disminuyó significativamente (véase la Fig. 3). Además, el caso de la coadministración de sulpirida y PEP1 muestra que el peso de la próstata disminuyó significativamente en el modelo animal con BPH inducida (véase la Fig. 4). Si el valor de P está por debajo de 0,05, significa un resultado significativo.

Por lo tanto, a través del resultado del ejemplo 2, la administración de PEP1 al modelo animal con BPH inducida por sulpirida puede ser eficaz para, en forma dependiente de la dosis, para la disminución de la expresión de la 5 α -reductasa, la disminución del peso de las vesículas seminales y la disminución del peso de la próstata. Por lo tanto, la administración de PEP1 puede ser eficaz para tratar y mejorar los síntomas de la enfermedad relacionados con la BPH que provienen de la expresión de la 5 α -reductasa y el peso de los órganos reproductores.

Ejemplo 3: Verificación del efecto del PEP1 en la BPH mediante la observación de los cambios en la proliferación de las células del estroma y células epiteliales de la próstata por DHT

1) Preparación para las células de prueba y procedimiento del experimento

La testosterona se convierte en DHT por la 5 α -reductasa cuando se inyecta en el cuerpo e induce la proliferación de células de la próstata para causar la BPH. Sobre esta base, el experimento se ha realizado para observar el efecto sobre la proliferación de la línea celular de la próstata mediante el uso de la administración de PEP1 de acuerdo con el ejemplo 1. Como líneas celulares, se usan WPMY-1 (línea celular del estroma de la próstata) y RWPE-1 (línea celular del epitelio prostático) de modelos animales. Para el experimento, WPMY-1 (2,5x10³ células) y RWPE-1 (1x10⁴ células) se sembraron en 96 pocillos, con separación de los grupos experimentales como en la Tabla 4 para observar el cambio de la proliferación. El cambio de la proliferación se observó mediante la colocación de la solución CCK-8 en cada pocillo del medio por 10 μ l después de succionar el medio de cultivo, y la medición de la densidad óptica durante 1-4 horas a una longitud de onda de 450 nm.

2) Confirmación del resultado observado y los efectos

En los grupos no tratados con DHT (grupos 1-3), no hubo diferencias significativas entre el grupo sin administración de PEP1 (grupo 1) y los grupos con administración de PEP1 (grupos 2 y 3) tanto en WPMY-1 como RWPE-1. En los grupos tratados con DHT (grupos 4-6) hay diferencias significativas entre el grupo sin administración de PEP1 (grupo 4) y los grupos con administración de PEP1 (grupos 5 y 6), y los grupos que se trataron con PEP1 muestran un efecto de inhibición significativo de la proliferación (véase la Tabla 4 y la Fig. 5, 6). Por lo tanto, PEP1 puede ser eficaz en la inhibición de la proliferación de células de la próstata, lo que afecta la BPH inducida por DHT.

[Tabla 4]

Condición de tratamiento para cada grupo de línea celular	
Grupo (WPMY-1 y RWPE-1 en común)	Tratamiento
1 (CTRL)	Solo línea celular
2 (100)	Tratamiento con PEP1 100 μ M en la línea celular
3 (200)	Tratamiento con PEP1 200 μ M en la línea celular
4 (DHT25)	Tratamiento con DHT 25 μ M en la línea celular al mismo tiempo
5 (100)	Tratamiento con PEP1 (100 μ M) y DHT (25 μ M) en la línea celular al mismo tiempo
6 (200)	tratamiento con PEP1 (200 μ M) y DHT (25 μ M) en la línea celular al mismo tiempo

Ejemplo 4: Verificación de la capacidad de unión al receptor de andrógenos y el mecanismo de inhibición de BPH de PEP1

1) Preparación para las células de prueba y procedimiento del experimento

La DHT creada por la 5 α -reductasa promueve la proliferación de células de la próstata al unirse al receptor de andrógenos, y causa LA BPH. Sobre esta base, se ha realizado el experimento relacionado con la proliferación de células de la próstata que administra PEP1 al cuerpo de acuerdo con el ejemplo 1. Como las líneas celulares, se usaron WPMY-1 y RWPE-1 de modelos animales. WPMY-1 y RWPE-1 se separaron en el grupo de receptores

antiandrógenos y el grupo de control de isotipo, se incubaron con cada uno de los anticuerpos para realizar pruebas competitivas con la adición de PEP1-FITC (isotiocianato de fluoresceína), y se midieron los resultados por valor de fluorescencia. El valor de fluorescencia se midió usando el procedimiento de citometría de flujo.

2) Confirmación del resultado observado y los efectos

5 Para cada uno de WPMY-1 y RWPE-1, se midieron los valores de fluorescencia en los que en un caso hubo una reacción primero con el anticuerpo de control de isotipo del receptor antiandrógenos (en competencia con el anticuerpo, el pico más alejado a la derecha), en otro caso hubo una reacción con el anticuerpo antireceptor de andrógenos (en competencia con el anticuerpo, pico del medio), y en otro caso no hubo reacción con ninguno de los dos anticuerpos ni unión al FITC (pico más alejado a la izquierda) (véase la Fig. 7 y Fig. 8). En el caso de la competencia con el anticuerpo de control de isotipo de receptor antiandrógeno, PEP1 se unió al receptor antiandrógeno, por lo que el valor de fluorescencia del conjugado PEP1-FITC aumentó (el pico se desplazó a la derecha del histograma en el gráfico). En el caso de la competencia con el receptor antiandrógenos, PEP1 se unió débilmente al receptor antiandrógenos, por lo que el valor de fluorescencia disminuyó (el pico se desplazó a la izquierda del histograma en el gráfico). Por lo tanto, al considerar que PEP1 inhibe la BPH inducida por DHT que se une al receptor antiandrógenos, PEP1 puede afectar la BPH al unirse directamente a un receptor antiandrógenos.

Ejemplo 5: Verificación de la eficacia in vivo de PEP1 para la BPH mediante el uso del modelo animal con BPH inducida

1) Preparación del animal de prueba

20 En el experimento se usaron ratones macho C57BL/6 (n = 10/grupo) de 6-8 semanas de edad y los ratones se criaron en el área SPF (libre de patógenos específicos) del laboratorio experimental de animales en el Medical College of Seoul University. Enantato de testosterona (TE, adquirido en EVER Pharma Hena GmbH, Germany) para inyección de 50 mg y 0,5 mg de valerato de estradiol (adquirido en EVER Pharma Hena GmbH, Germany) se mezclan respectivamente en 70 µl de volumen de bomba microosmótica (bomba Alzet, adquirida en DURECT Corporation, USA), y la bomba se trasplantó al lomo del ratón bajo anestesia. La bomba se diseñó para liberar la hormona en la concentración de 0,11 µl por hora durante 28 días (2 semanas) en el ratón mediante el uso del fenómeno de ósmosis.

2) Materiales de prueba y dosis de administración

30 Como materiales de prueba, se usaron testosterona y finasterida. Para los modelos animales preparados, por un individuo (modelo de ratón de 25 g) se administraron 250 µg de PEP1 de acuerdo con el ejemplo 1 y 2500 µg de finasterida (en DMSO o ciclodextrina, adquirida en Sigma Aldrich, USA) por vía subcutánea (inyección) respectivamente cada día. Después de 2 semanas de inyección de los materiales de prueba (4 semanas después de trasplantar la bomba al modelo animal), la sangre se recogió de la vena supraorbital y se centrifugó a 14000 rpm, 4 °C, 30 minutos para separar el suero sanguíneo, y la próstata se extrajo y se congeló en nitrógeno líquido a -70 °C o se fijó en un líquido de fijación. Los grupos de prueba para el experimento se describen en la Tabla 5 a continuación.

[Tabla 5]

Grupo de prueba	Experimento
CTL (control)	Ratón normal (tratado sin testosterona ni estradiol)
H-CTL (BPH)	Modelo de ratón con BPH inducida (tratado con testosterona y estradiol)
H-GV (PEP1)	Administración de PEP1 al modelo de ratón con BPH inducida
H-F (Finasterida)	Administración de finasterida al modelo de ratón con BPH inducida

35

3) Medición de la disminución de los factores que inducen la BPH

40 La inducción de la BPH aumenta el PCNA (antígeno nuclear de células en proliferación, proteína obligatoria para la replicación) y Ki67 (MK167, proteína obligatoria para la proliferación de células) en los tejidos de la próstata. Sobre esta base, se realiza una prueba para medir la eficacia del PEP1 para inhibir la expresión de PCNA y Ki67 en el modelo de ratón con BPH inducida. El PCNA se midió usando electroforesis en gel 2D con proteína extraída de células de tejido de la próstata, y Ki67 se midió por procedimiento de inmunotinción para detectar el nivel de expresión en el tejido. Como resultado, la expresión de PCNA y Ki67, que aumentaron en el tejido prostático del animal con BPH inducida, disminuyó por el tratamiento de PEP1 (véase la Fig. 9 y Fig. 10). Por lo tanto, PEP1 inhibe los factores inductores de la BPH y puede ser eficaz para tratar y mejorar la BPH.

45 4) Medición del cambio de tejido relacionado con la inducción de la BPH

Es sabido que la BPH fue inducida por una proliferación anormal de células del estroma y células epiteliales que

componen las glándulas prostáticas. Sobre esta base, para detectar que PEP1 causa los cambios en el tejido prostático del modelo animal con BPH inducida, se realizó un análisis histológico del modelo animal con BPH inducida. Se usó el procedimiento de tinción H&E para detectar los cambios en el tejido general y se usó el procedimiento de tinción tricrómica de Masson para medir el nivel de reacción inflamatoria y detectar la forma del núcleo con mayor claridad. Para el resultado, se demostró que la capa epitelial del grupo con BPH inducida era más gruesa que la del grupo de control, pero, en el grupo de tratamiento con PEP1, se demostró que la capa epitelial estaba dispuesta en orden regular como la del grupo de control y que el espesor del epitelio era menor que el del grupo con BPH inducida (véase la Fig. 11 y 12). Por lo tanto, PEP1 puede ser eficaz para restaurar los cambios del tejido con BPH inducida y convertir el tejido en tejido normal, que no muestra la BPH.

5

10 **5) Medición de los cambios de los órganos relacionados con la BPH**

La BPH se puede detectar por los cambios de los pesos de la próstata y la vesícula seminal. Sobre esta base, para detectar el efecto del PEP1 en los pesos de la próstata y la vesícula seminal que muestran directamente los síntomas relacionados con la BPH, se midieron el peso corporal, el peso de la próstata y el peso de las vesículas seminales en un modelo animal con BPH inducida. Los resultados de la medición se muestran en la Tabla 5 por grupo como un gráfico (véase la Fig. 13,14 y 15). No se mostró el cambio del peso corporal general, pero se demostró que el peso de la próstata en el grupo tratado con PEP1 disminuyó significativamente en comparación con el resultado del grupo tratado con hormonas y la disminución del peso en el grupo tratado con PEP1 fue comparable al resultado del grupo con administración de finasterida, conocido como un fármaco para el tratamiento de la BPH, por lo que se confirma que la disminución en el grupo tratado con PEP1 es significativa. Para la vesícula seminal, el peso de la vesícula seminal del grupo tratado con PEP1 fue menor que el del grupo tratado con hormonas. Por lo tanto, PEP1 puede ser eficaz para disminuir significativamente el peso de los órganos que tienen síntomas de la BPH.

15

20

En todos los ejemplos anteriores, a través del experimento en el modelo animal con BPH inducida in vitro e in vivo, se demuestra que PEP1 tiene un buen efecto de tratamiento para los factores inductores relacionados con la BPH, los receptores hormonales y los órganos reproductores sustantivos. Por lo tanto, se considera que PEP1 es eficaz para tratar, mejorar y prevenir la BPH, y existe una alta probabilidad de desarrollar PEP1 en una composición para el tratamiento de la BPH y un procedimiento para tratar la BPH.

25

Texto libre del listado de secuencias

Secuencia total de telomerasa 1132 aa

MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPLATFVRRLLGPQGWRLVQRGDPAAFRAL
VAQCLVCVPWDARPPPAAPSFRQVSCLKELVARVLQRLCERGAKNVLAFG
FALLDGARGGPPEAFTTSVRSYLPNTVTDALRGSGAWGLLLRRVGDVLDV
HLLARCALFVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGAATQARPPPHASGPRRRLGCE
RAWNHSVREAGVPLGLPAPGARRRGGSASRSLPLPKRPRRGAPEPERT
PVGQGSWAHPGRTRGPSDRGFCVVSPPARPAEEATSLEGALSGTRHSHPS
VGRQHHAGPPSTSRPPRPWDTPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLS
SLRPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRLPQRYWQMRPLFLELLG
NHAQCPYGVLLKTHCPLRAAVTPAAGVCAREKPGQGSVAAPPEEEDTDPRL
VQLLRQHSSPWQVYGFVRACLRRLVPPGLWGSRHNERFLRNTKKFISLG
KHAKLSLQELTWKMSVRDCAWLRRSPGVGCVPAAEHRLREEILAKFLHWL
MSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRFFYRKS VWSKLSIGIRQHLKRVQLRE
LSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVVGARTFRREKRA
ERLTSRVKALFVSNYERARRPGLLGASVGLDDIHRARWTFVLRVRAQDP
PPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIKPQNTYCVRRYAVVQKAAHGH
VRKAFKSHVSTLTDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAVVIEQSSSLNEASSGL
FDVFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQGIPQGSILSTLLCSLCYGD MENKLFAGI
RRDGLLLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEYGCVVNLRKT VVNFV
EDEALGGTAFVQMPAHGLFPWCGLLLDTRTLEVQSDYSSYARTSIRASLTF
NRGFKAGRNMRRKLFGLVRLKCHSLFLDLQVNSLQTVCTNIYKILLQAYRF
HACVLQLPFHQQVWKNPTFFLRVISDTASLCYSILKAKNAGMSLGAKGAAG
PLPSEAVQWLCHQAFLLKLTRHRVTYVPLLGSLRTAQTQLSRKLP GTTLTAL
EAAANPALPSDFKTILD

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> KAEL-GEMVAX CO., LTD.

KIM, Sangjae

5

<120> Una composición para tratar y prevenir la hiperplasia prostática benigna

<130> OF14P169PCT

10

<150> KR 10-2013-0126666

<151> 2013-10-23

ES 2 773 296 T3

<160> 2

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

5 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 1 5 10 15

<210> 2

<211> 1132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
 1 5 10 15

His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
 20 25 30

Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
 35 40 45

Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
 50 55 60

Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
 65 70 75 80

Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
 85 90 95

Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
 100 105 110

Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
 115 120 125

Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
 130 135 140

Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
 145 150 155 160

ES 2 773 296 T3

Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
 165 170 175
 Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
 180 185 190
 Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
 195 200 205
 Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg
 210 215 220
 Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
 225 230 235 240
 Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
 245 250 255
 Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
 260 265 270
 Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
 275 280 285
 Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
 290 295 300
 Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
 305 310 315 320
 Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
 325 330 335
 Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
 340 345 350
 Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
 355 360 365
 Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
 370 375 380
 Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
 385 390 395 400
 Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
 405 410 415
 Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
 420 425 430
 Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
 435 440 445
 Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
 450 455 460
 Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
 465 470 475 480
 Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
 485 490 495

ES 2 773 296 T3

Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
 500 505 510
 Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
 515 520 525
 Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
 530 535 540
 Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
 545 550 555 560
 Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr
 565 570 575
 Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His
 580 585 590
 Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln
 595 600 605
 His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 610 615 620
 Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
 625 630 635 640
 Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser
 645 650 655
 Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg
 660 665 670
 Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg
 675 680 685
 Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro
 690 695 700
 Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile
 705 710 715 720
 Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln
 725 730 735
 Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His
 740 745 750
 Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp
 755 760 765
 Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser
 770 775 780
 Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu
 785 790 795 800
 Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His
 805 810 815
 Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro
 820 825 830

ES 2 773 296 T3

Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp
835 840 845

Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu
850 855 860

Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala
865 870 875 880

Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
885 890 895

Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
900 905 910

Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
915 920 925

Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
930 935 940

Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
945 950 955 960

Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
965 970 975

Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
980 985 990

Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
995 1000 1005

Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln
1010 1015 1020

Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala
1025 1030 1035 1040

Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
1045 1050 1055

Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp
1060 1065 1070

Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr
1075 1080 1085

Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser
1090 1095 1100

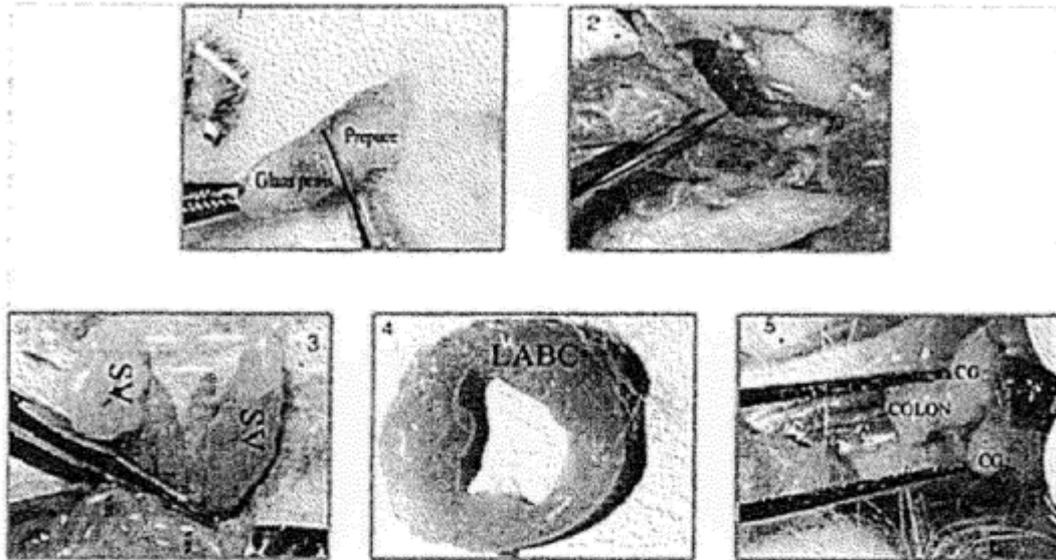
Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn
1105 1110 1115 1120

Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
1125 1130

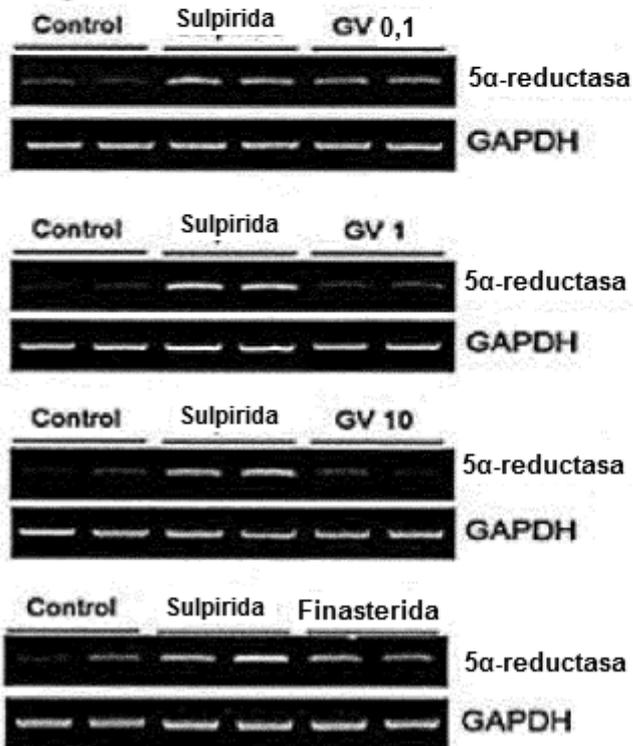
REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para su uso en un procedimiento para tratar o prevenir la hiperplasia prostática benigna (BPH), en el que la composición comprende un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NÚM.:1 o una variante activa o fragmento del mismo, teniendo la variante una o más sustituciones de aminoácidos y una secuencia de aminoácidos que tiene una homología de 80% o más con la SEQ ID NÚM.:1.
2. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición comprende un aditivo o más seleccionados de un grupo de diluyentes, excipientes, lubricantes, aglutinantes, desintegrantes, tampones, dispersantes, tensioactivos, agentes colorantes, aromáticos o edulcorantes.
- 10 3. La composición para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que la composición comprende 0,01 mg a 1 mg del péptido.
4. La composición para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la composición comprende 0,56 mg del péptido.
5. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición es una composición farmacéutica.
- 15 6. La composición para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la composición es una composición alimenticia.
7. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la dosis de administración diaria del péptido es 0,001 mg/kg a 10 mg/kg.
- 20 8. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la composición se administra en 0,005 mg/kg a 0,05 mg/kg en una vez.
9. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la composición se administra 1 a 3 veces al día.
- 25 10. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la composición se administra cada 2 semanas durante un período de tratamiento total de 12 semanas, en la que la administración se realiza en un día de la semana 0, semana 2, semana 4, semana 6, semana 8, semana 10, y semana 12 y la dosis de administración en una vez es de 0,56 mg/kg de peso corporal, correspondiente a 4 nmol de péptido/kg de peso corporal.

【Fig. 1】



【Fig. 2】



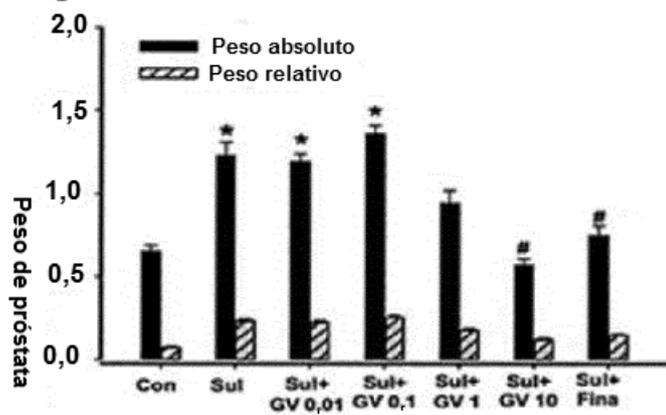
Efecto de GV1001 sobre el nivel de ARNm de la 5α-reductasa en la próstata

[Fig. 3]



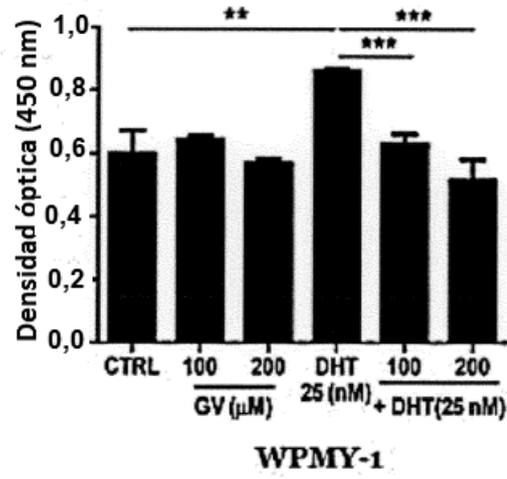
Efecto de GV1001 sobre el peso de la vesícula seminal (*p < 0,05 versus grupo control; #p <0,05 versus Sul)

[Fig. 4]

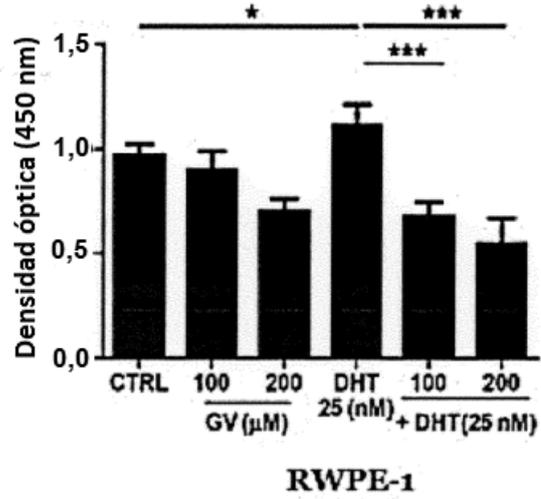


Efecto de GV1001 sobre el cambio del peso de la próstata (*p < 0,05 versus grupo control; #p <0,05 versus Sul)

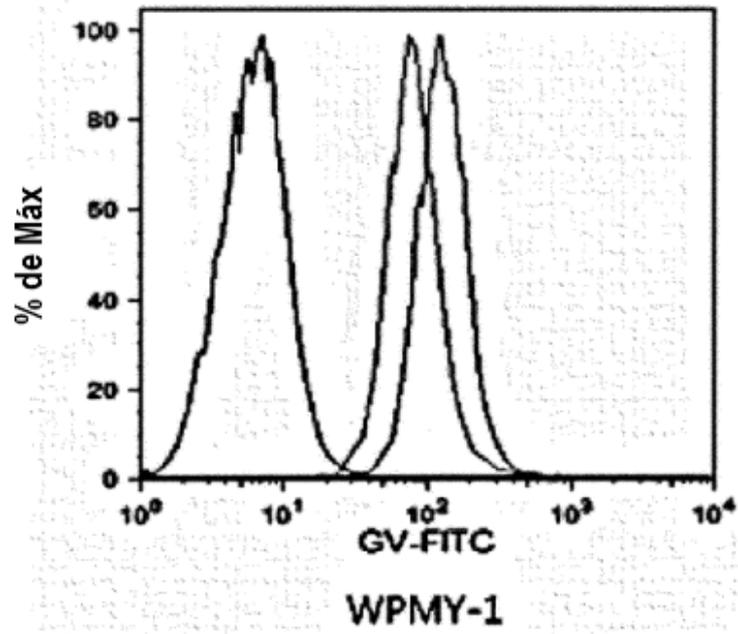
【Fig. 5】



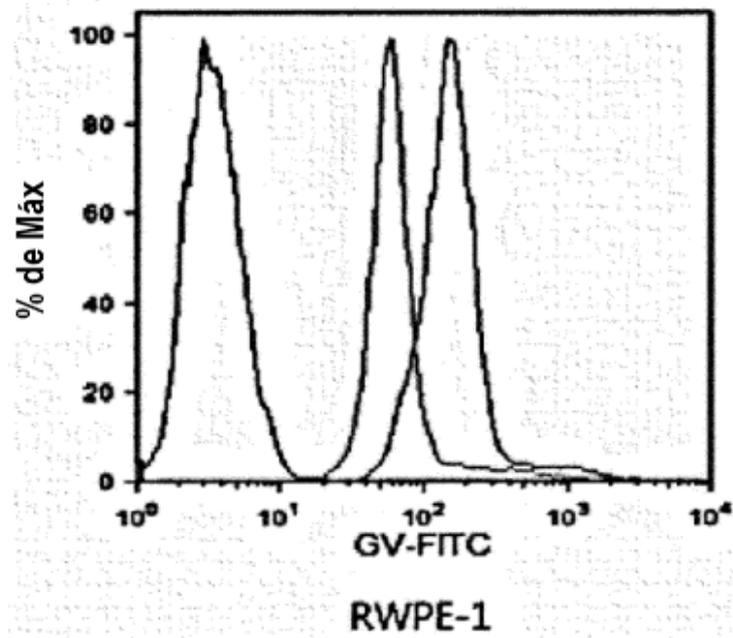
【Fig. 6】



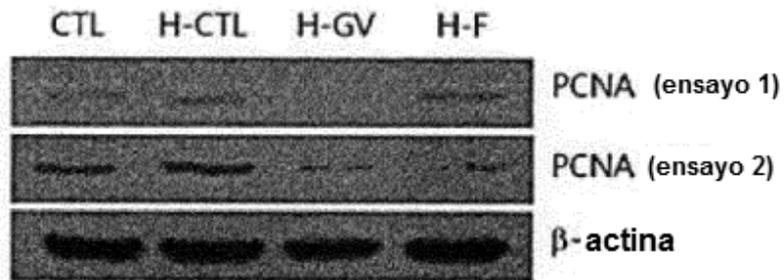
【Fig. 7】



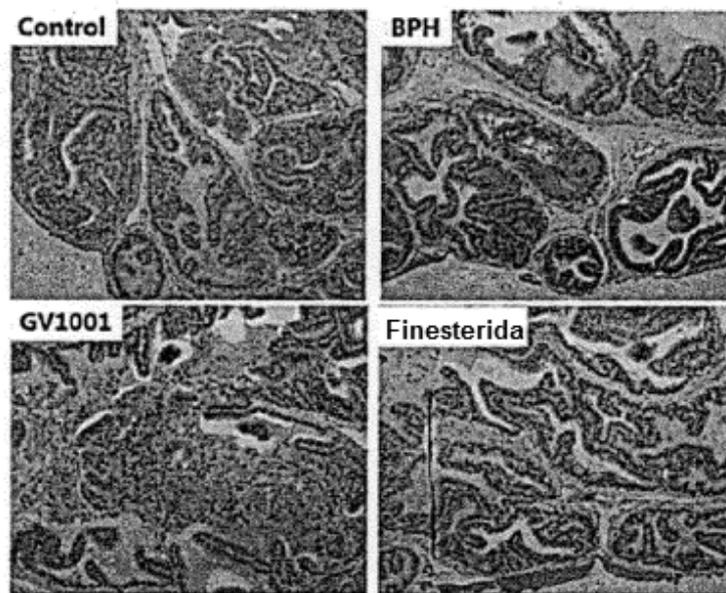
【Fig. 8】



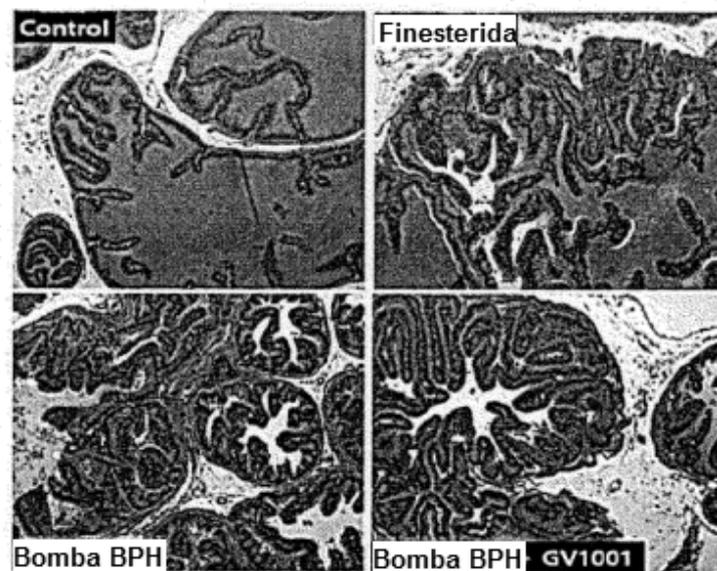
[Fig. 9]



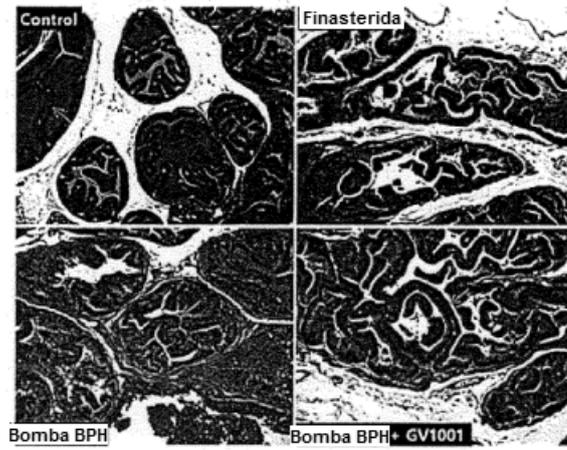
[Fig. 10]



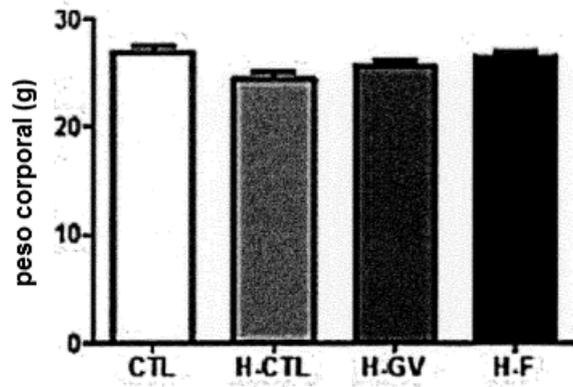
[Fig. 11]



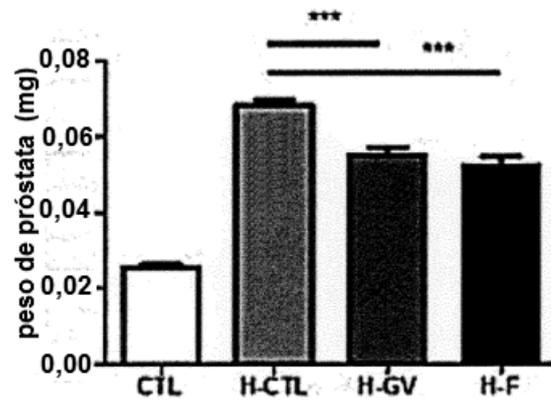
【Fig. 12】



【Fig. 13】



【Fig. 14】



【Fig. 15】

