

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 179**

51 Int. Cl.:

C07K 7/06 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

C07K 14/575 (2006.01)

C07K 7/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.04.2010 E 10761456 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.11.2014 EP 2418213**

54 Título: **Derivado de neuromedina U**

30 Prioridad:

08.04.2009 JP 2009094000

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

18.12.2014

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED
(100.0%)**

**1-1 Doshomachi 4-chome Chuo-ku
Osaka-shi, Osaka 541-0045 , JP**

72 Inventor/es:

**ASAMI, TAIJI;
INOOKA, HIROSHI y
NISHIZAWA, NAOKI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 525 179 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

Derivado de neuromedina U

Campo de la técnica

La presente invención se refiere a un derivado de la neuromedina U.

5 Antecedentes de la técnica

La neuromedina U (NMU) se aisló primero como un péptido que consiste en 25 restos aminoacídicos o como un péptido que consiste en 8 restos aminoacídicos del intestino delgado del cerdo con la ayuda de la actividad de contracción del músculo liso uterino como índice. Estos péptidos se nombran NMU-25 porcina o NMU-8 porcina, basándose en el número de restos aminoacídicos. La NMU-8 porcina es un producto de escisión de la NMU-25 porcina y consiste en 8 restos del extremo carboxilo de la NMU-25 porcina.

De igual forma, se conoce la NMU-25 de los humanos. La secuencia de aminoácidos de los 8 restos del extremo carboxilo de la NMU-25 humana es la misma que la de los 8 restos del extremo carboxilo de la NMU-8 porcina.

La NMU de rata consiste en 23 restos aminoacídicos y se denomina NMU-23. La secuencia de aminoácidos de los 8 restos del extremo carboxilo de la NMU-23 de rata difiere de la de los 8 restos del extremo carboxilo de la NMU-8 porcina en un resto aminoacídico.

Se identificó inicialmente que FM3, que es un GPCR huérfano, era el receptor de la NMU; posteriormente se identificó el TGR1. Hoy en día, estos receptores se denominan NMUR1 y NMUR2, respectivamente. FM3 se distribuye principalmente en el tramo intestinal, mientras que TGR1 se localiza en el hipotálamo.

Como receptor para TGR1, se ha aislado un nuevo péptido del cerebro de rata. Ya que este péptido se localiza en el núcleo supraquiasmático dentro del hipotálamo, se denominó neuromedina S (NMS) por la letra inicial del núcleo supraquiasmático.

La NMS humana consiste de 33 restos aminoacídicos y la secuencia de aminoácidos de los 8 restos aminoacídicos del extremo carboxilo son los mismos que tiene la secuencia de aminoácidos de los 8 restos del extremo carboxilo de la NMU-23 de rata.

Los NMUR1 y NMUR2 muestran una afinidad parecida por NMU, NMS y NMU-8. Se ha sugerido que estos receptores reconocen con fuerza la secuencia de aminoácidos de los 8 restos del extremo carboxilo, cuya secuencia es común a NMU y a NMS.

La administración intracerebroventricular de la NMU-23 de rata a las ratas induce la supresión de la ingestión de alimentos. También se ha descrito que una inyección local de NMU en el núcleo paraventricular (NPV) o el núcleo arqueado (ARC) induce una actividad anorexígena como en el caso de su administración intracerebroventricular; por lo tanto, los sitios de acción de NMU se supone que son el NPV y el ARC. Además, se ha demostrado que la administración intracerebroventricular del anticuerpo anti-NMU incrementa la ingestión de alimentos, lo que sugiere que la NMU central produce efectos fisiológicos que suprimen la ingestión de alimentos. También se ha descrito que los ratones sin NMU mostraban un fenotipo obeso y que los ratones que sobreexpresan la NMU mostraban una menor masa corporal y una reducción de la ingestión de alimentos. Esto esclarece el significado fisiológico de la NMU endógena.

Se ha descrito adicionalmente que una administración intracerebroventricular de la NMU ocasiona una elevación de la temperatura corporal, generación de calor y elevación del consumo de oxígeno. Se supone que estas actividades se deben a la activación simpática del tejido adiposo y del sistema muscular.

También se ha descrito que la supresión de la secreción de ácidos gástricos y la supresión del vaciado gástrico están ocasionadas por una administración intracerebroventricular de la NMU. Se supone que estas actividades se deben a los efectos centrales de la secreción de la CRH (corticoliberina). Estas actividades dan lugar a una reducción de la ingestión de alimentos.

Aún no se ha examinado con detalle de qué forma la administración periférica de la NMU ocasiona una acción sobre el intestino; sin embargo, si se considera que el NMUR1 se expresa en el intestino, se puede suponer que la administración periférica de la NMU ocasiona una cierta acción sobre el intestino. Basándose en esta suposición, se examinó la acción sobre el estómago o el intestino que ocasiona la administración periférica de NMU, y se descubrió la actividad procinética específica del colon.

En la bibliografía de patentes (PTL, por su nombre en inglés) 1 y 2 se describe que se consigue un efecto anorexígeno mediante la administración periférica de la NMU.

En la PTL 3 se describe un derivado de la neuromedina U en donde un metoxipolietilenglicol se une mediante un conector que tiene una estructura específica a un polipéptido que contiene al menos 8 aminoácidos del extremo

carboxilo de una secuencia de aminoácidos de la neuromedina U y que consiste en la secuencia de aminoácidos idéntica o sustancialmente idéntica a la secuencia de aminoácidos de la neuromedina U.

Los presentes inventores también descubrieron espontáneamente que la NMU-23 induce una actividad anorexígena mediante la administración periférica. Por el contrario, la NMU-8 no induce una actividad anorexígena mediante la administración periférica, aunque la NMU-8 tiene una actividad agonista suficientemente fuerte sobre los receptores, NMUR1 y NMUR2.

Para que una neuromedina U sea útil como anorexígeno, es muy importante que una neuromedina U induzca una actividad anorexígena elevada incluso cuando se administra de la manera usual, por ejemplo, por vía periférica.

Se conocen diferentes compuestos a modo de derivados de PEG que se utilizan para las modificaciones químicas en el ámbito de la medicina.

Lista de citas.

Bibliografía de patentes

PTL 1: solicitud de patente internacional WO 2007/075439

PTL 2: solicitud de patente internacional WO 2007/109135

PTL 3: patente europea EP 2206721 A1

Compendio de la invención

Problema técnico

Un objeto de la presente invención es dar a conocer un nuevo anorexígeno.

Otro objeto de la presente invención es dar a conocer un nuevo derivado de la neuromedina U que muestra un efecto anorexígeno alto incluso cuando se administra de la manera usual, por ejemplo, por vía periférica.

Solución del problema

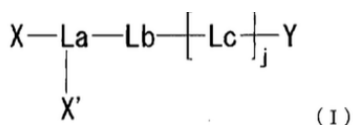
Los inventores de la presente invención postularon que una causa para la ausencia de actividad anorexígena tras la administración periférica es la inestabilidad de la NMU-8 en la sangre. Además, los inventores infirieron que un derivado de la NMU-8 (o un compuesto modificado de la misma) que es muy estable en la sangre muestra una actividad anorexígena suficiente.

Así pues, los inventores prepararon un derivado de la neuromedina U que comprende un polipéptido específico que se produce por la introducción de la sustitución de 1 a 4 restos aminoacídicos en una secuencia de aminoácidos que consiste de 8 aminoácidos del extremo carboxilo de la neuromedina U y al que se une un metoxipoli(etil)englicol mediante un conector. Los inventores revelaron que tal compuesto modificado de NMU-8 muestra un efecto anorexígeno suficientemente fuerte y un efecto reductor de la masa corporal incluso cuando se administra por vía periférica.

Basándose en este hallazgo, los inventores continuaron su investigación y completaron la presente invención.

Más específicamente, la presente invención da a conocer los siguientes compuestos definidos en los puntos [1] a [3], agentes en los puntos [4] y [5], compuesto para ser usados en el punto [6] y el uso en el punto [7].

[1] Un compuesto representado por la fórmula



según se define en la [Reivindicación 1] más adelante.

[2] El compuesto del punto [1] o una sal del mismo, en donde Y es un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID n.º 2 a 10 y 12 a 20.

[3] El compuesto del punto [1] o una sal del mismo, en donde la distancia desde el átomo de nitrógeno más cercano al Lb del Lc al átomo de nitrógeno del extremo amino de la neuromedina U es de 3,5 a 30 Å.

[4] Un anorexígeno que comprende el compuesto del punto [1] o una sal del mismo.

[5] Un agente para la prevención o el tratamiento de la obesidad que comprende el compuesto del punto [1] o una

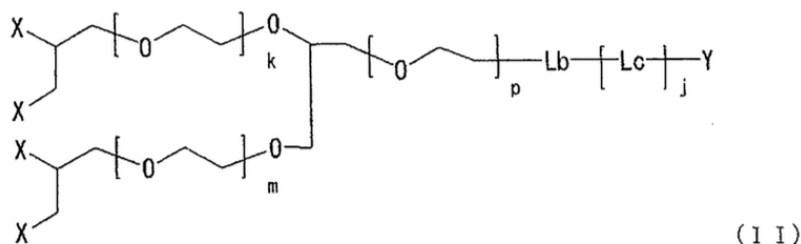
sal del mismo.

[6] Un compuesto del punto [1] o una sal del mismo para ser usado en la prevención o el tratamiento de la obesidad en un mamífero.

5 [7] Uso del compuesto del punto [1] o una sal del mismo para producir un agente para la prevención o tratamiento de la obesidad.

La presente descripción da a conocer además los siguientes compuestos de los puntos [14] y [15].

[14] Un compuesto representado por la fórmula



10 [en donde Y representa un polipéptido que consiste de una secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1, en donde los aminoácidos 1 a 4 están sustituidos, y

la sustitución aminoacídica de la secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1 se selecciona de:

- (1) sustitución de la Tyr de la posición 1 por Ala, Arg, Glu, Ser, Gln, NMeArg, o Pro;
 - (2) sustitución de la Phe de la posición 2 por Val, Gln, Arg, Glu, Ser, Tyr, Pro, Cha o Aib;
 - (3) sustitución de la Leu de la posición 3 por Gln, Arg, Glu, Ser, Val, Phe, Pro, Thr, Cha, Nle, NMeArg o Aib;
 - 15 (4) sustitución de la Phe de la posición 4 por Gln, Leu, Pro, Cha, NMePhe o Aib;
 - (5) sustitución de la Arg de la posición 5 por Nle, Gln, NMeArg o Aib;
 - (6) sustitución de la Pro de la posición 6 por Ala o Aib;
 - (7) sustitución de la Arg de la posición 7 por Arg (Me); y
 - (8) sustitución de la Asn de la posición 8 por Nle, Gln, Arg, Asp, Pro o Aib;
- 20 X representa un metoxipolietilenglicol (siempre y cuando una serie de X, en donde cada una representa un metoxipolietilenglicol, pueden ser iguales o diferentes);

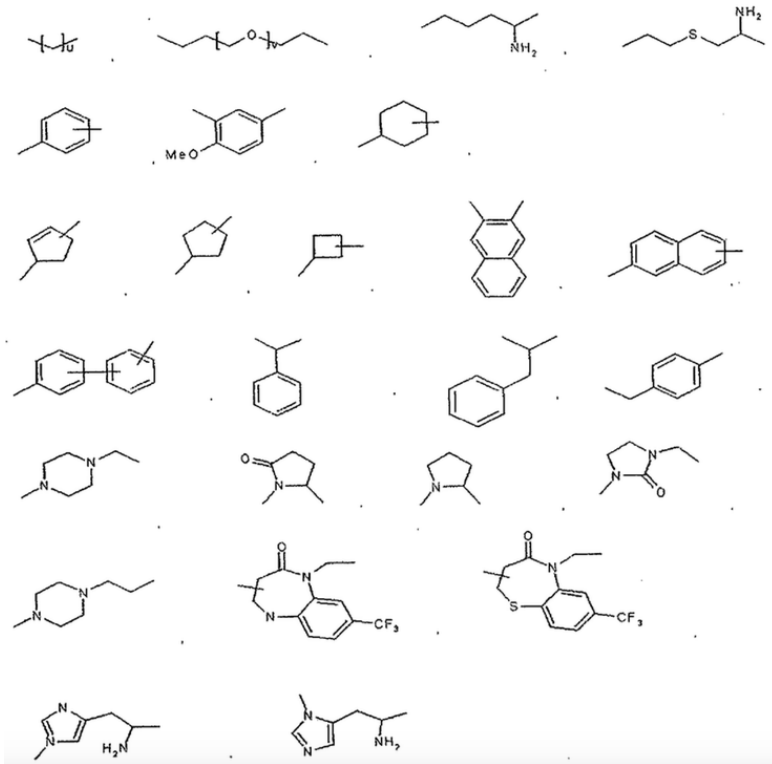
Lb representa $-(CH_2)_i-$ (en donde i es un entero de 1 a 5);

Lc representa un grupo divalente representado por la fórmula (i): $-NH-Q^C-C^b-$

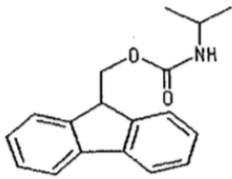
(en donde Q^C representa la fórmula: $-(CH_2)_{m1}-Z^C-(CH_2)_{m2}-$

25 (en donde m1 es un entero de 0 a 15,

Z^C representa (a) un enlace o (b) un grupo divalente seleccionado de $-CO-$, $-O-CO-$, $-CO-O-$, $-CO-NH-$, $-NH-CO-$, $-CO-NH-CO-$, $-NH-CO-NH-$, $-CH(NH_2)-$, $-CH(-NHR^{Zc1})-$, $-CH(R^{Zc2})-$, $-CH(OH)-$, $-CH(COOH)-$, $-C(=NH)-$, $-S-$, $-S-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NH-SO_2-$, $-SO_2-NH-$,



y



(en donde u es un entero de 1 a 18,

5 v representa un entero de 1 a 12,

R^{Zc1} representa un grupo amino-alkilo (C_{1-5}) de cadena lineal-carbonilo o un grupo X-alkilo (C_{1-5}) de cadena lineal (en donde X es como está definido más arriba),

R^{Zc2} representa un grupo amino-alkilo (C_{1-5}) de cadena lineal-carbonilamino-alkilo (C_{1-5}) de cadena lineal) y

m^2 representa un entero de 0 a 15),

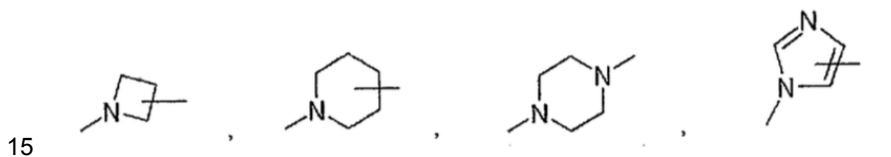
10 C^b representa un enlace, $-CO-$, o $-SO_2-$, o

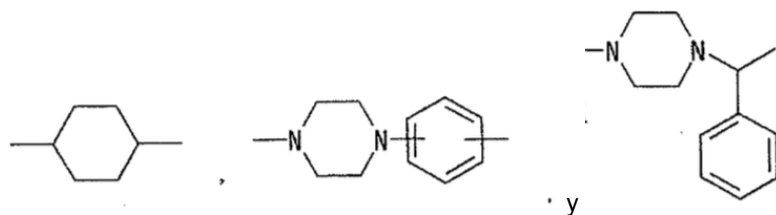
un grupo divalente representado por la fórmula (ii): $-Q^c-C^b-$

(en donde Q^c representa la fórmula: $-(CH_2)_{m1}-Z^c-(CH_2)_{m2}-$

(en donde $m1'$ es un entero de 0 a 15; y

Z^c representa un grupo divalente seleccionado de





y m2' es un entero de 0 a 15); y

C^b es -CO- o -SO₂-);

k es un entero de 1 a 100;

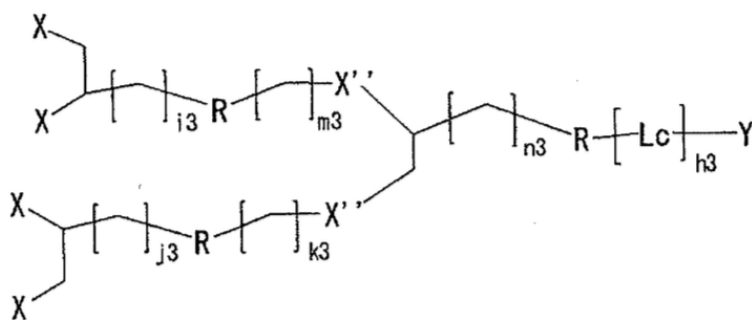
5 m es un entero de 1 a 100;

p es un entero de 1 a 100; y

j es un entero de 0 a 3] o

una sal del mismo.

[15] Un compuesto representado por la fórmula



10

[en donde Y representa un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1, en donde están sustituidos de 1 a 4 aminoácidos,

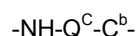
la sustitución de los aminoácidos en la secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1 se selecciona de:

- (1) sustitución de la Tyr de la posición 1 por Ala, Arg, Glu, Ser, Gln, NMeArg o Pro;
- 15 (2) sustitución de la Phe de la posición 2 por Val, Gln, Arg, Glu, Ser, Tyr, Pro, Cha o Aib;
- (3) sustitución de la Leu de la posición 3 por Gln, Arg, Glu, Ser, Val, Phe, Pro, Thr, Cha, Nle, NMeArg o Aib;
- (4) sustitución de la Phe de la posición 4 por Gln, Leu, Pro, Cha, NMePhe o Aib;
- (5) sustitución de la Arg de la posición 5 por Nle, Gln, NMeArg o Aib;
- (6) sustitución de la Pro de la posición 6 por Ala o Aib;
- 20 (7) sustitución de la Arg de la posición 7 por Arg(Me); y
- (8) sustitución de la Asn de la posición 8 por Nle, Gln, Arg, Asp, Pro o Aib;

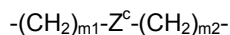
X representa un metoxipolietilenglicol (siempre y cuando una serie de X, en donde cada una representa un metoxipolietilenglicol, pueden ser iguales o diferentes), y

25 X'' representa un polietilenglicol (siempre y cuando una serie de X'', en donde cada una representa un polietilenglicol, pueden ser iguales o diferentes);

Lc representa un grupo divalente representado por la fórmula (i):

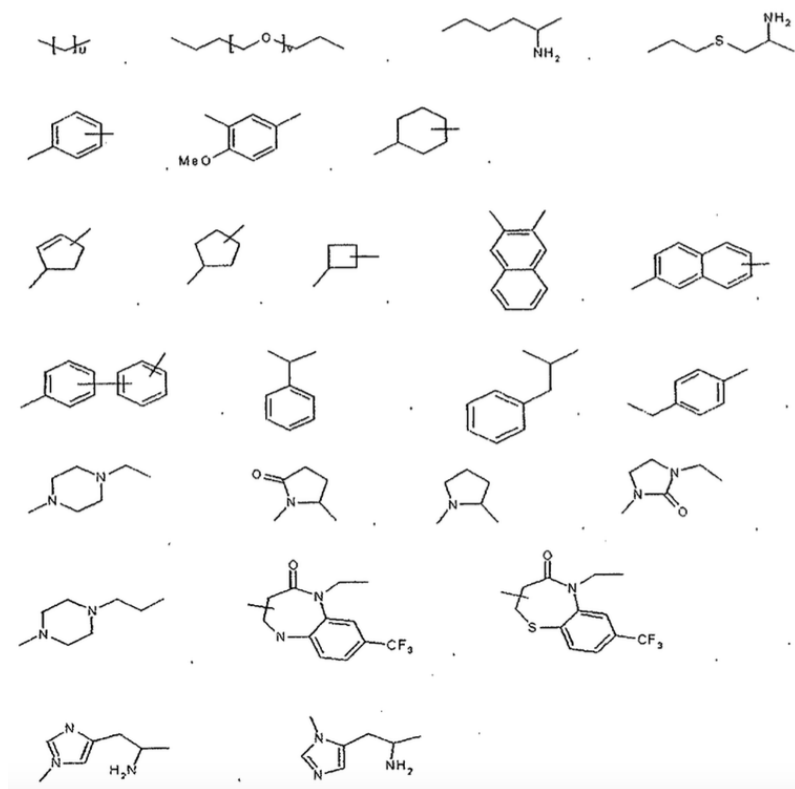


(en donde Q^C es un grupo divalente representado por la fórmula:



(en donde m1 es un entero de 0 a 15),

- 5 Z^C representa (a) un enlace o (b) un grupo divalente seleccionado de -CO-, -O-CO-, -CO-O-, -CO-NH-, -NH-CO-, -CO-NH-CO-, -NH-CO-NH-, -CH(NH₂)-, -CH(-NHR^{ZC1})-, -CH(R^{ZC2})-, -CH(OH)-, -CH(COOH)-, -C(=NH)-, -S-, -S-S-, -SO-, -SO₂-, -NH-SO₂-, -SO₂-NH-,



y

(en donde u es un entero de 1 a 18,

- 10 v es un entero de 1 a 12,

R^{ZC1} representa un grupo amino-alquilo (C₁₋₅) de cadena lineal-carbonilo, o un grupo X-alquilo (C₁₋₅) de cadena lineal (en donde X es como se define más arriba), y

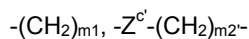
R^{ZC2} representa un grupo amino-alquilo (C₁₋₅) de cadena lineal-carbonilamino-alquilo (C₁₋₅) de cadena lineal), y

m2 es un entero de 0 a 15), y

- 15 C^b representa un enlace, -CO-, o -SO₂-), o

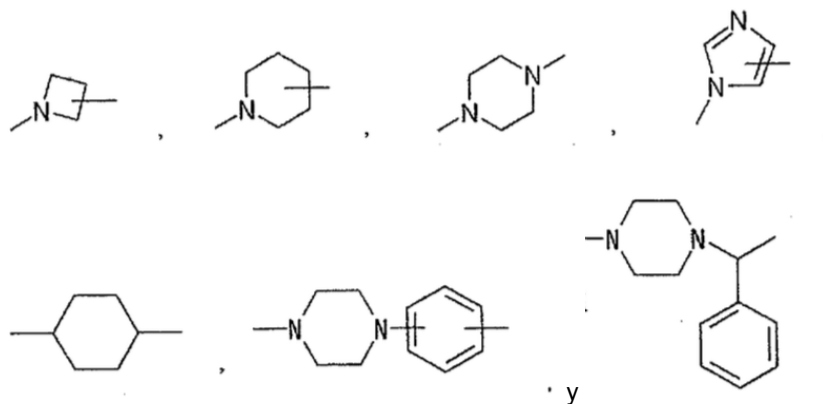
un grupo divalente representado por la fórmula (ii): -Q^c-C^b-

(en donde Q^c es un grupo divalente representado por la fórmula:



(en donde m1' es un entero de 0 a 15,

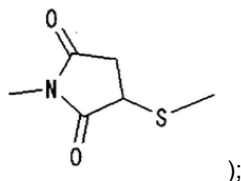
Z^c representa un grupo divalente seleccionado de



5 y m2' representa un entero de 0 a 15), y

C^b representa -CO- o -SO₂-); y

R es, en cada caso, igual o diferente, y representa un grupo divalente seleccionado de un enlace, -O-, -CO-O-, -O-CO-, -NH-, -CO-, -S-, -S-S-, -SO-, -SO₂-, -NH-SO₂-, -SO₂-NH-, -C(=O)-NH-N=CH-, -C(=NH)-NH-, -CO-CH₂-S-, o



10 h3 es un entero de 0 a 3; y

i3, j3, k3, m3 y n3 pueden ser iguales o diferentes, y cada uno representa un entero de 0 a 5]; o una sal del mismo.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden citar como el compuesto de la invención (o el derivado de la neuromedina U de la presente invención).

Efectos ventajosos de la invención

15 El derivado de la neuromedina U de la presente invención es muy estable y puede mostrar un efecto anorexígeno elevado, incluso cuando se administra de la manera usual, por ejemplo, por vía periférica. Así pues, el derivado de la neuromedina U de la invención es útil como anorexígeno.

Además, el derivado de la neuromedina U de la invención es útil como agente para prevenir o tratar la obesidad, ya que el derivado de la neuromedina U de la presente invención es muy estable y puede mostrar un efecto

20 antiobesidad alto, incluso cuando se administra de la manera usual, por ejemplo, por vía periférica.

Modo de realizar la invención

En la presente especificación, los ejemplos de «alquilo (C₁₋₅) de cadena lineal» incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo y n-pentilo. El metilo (CH₃) se puede indicar de aquí en adelante como «Me» de acuerdo con las convenciones.

25 Las abreviaturas utilizadas en la presente memoria para indicar aminoácidos, etc., están en consonancia con las abreviaturas definidas por la Comisión para la Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB o las abreviaturas habituales utilizadas en este campo, ejemplos de las cuales se muestran a continuación.

Para los aminoácidos que pueden existir como isómeros ópticos, se hace referencia a sus formas en L a menos que se especifique otra cosa.

Gly: glicina

30 Ala: alanina

Val: valina

- Leu: leucina
- Ile: isoleucina
- Ser: serina
- Thr: treonina
- 5 Cys: cisteína
- Met: metionina
- Glu: ácido glutámico
- Asp: ácido aspártico
- Lys: lisina
- 10 Arg: arginina
- His: histidina
- Phe: fenilalanina
- Tyr: tirosina
- Trp: triptófano
- 15 Pro: prolina
- Asn: asparagina
- Gln: glutamina
- Aib: ácido 2-aminoisobutírico
- Arg(Me): *N*^ω-metilarginina
- 20 Cha: β-ciclohexilalanina
- Nle: norleucina
- NMeArg: *N*^ε-metilarginina
- NMePhe: *N*-metilfenilalanina
- Arg: arginina
- 25 Phe: fenilalanina
- NMeTyr: *N*^ε-metiltirosina
- D-Tyr: D-tirosina
- Tyr(PO₃H₂): O-fosfotirosina
- Hse: homoserina
- 30 Nal(1): 1-naftilalanina
- Nal(2): 2-naftilalanina
- Leu(Me): γ-metil-leucina
- NMeLeu: *N*^ε-metil-leucina
- D-Leu: D-leucina
- 35 D-Ala: D-alanina
- Abu: ácido 2-aminobutanoico
- Phe(4F): 4-fluorofenilalanina

Pya(4): 4-piridilalanina

α MePhe: C ^{α} -metilfenilalanina

Orn: ornitina

Dbu: ácido 2,4-diaminobutanoico

5 Hyp: *trans*-4-hidroxiprolina

NMeAla: N ^{α} -metilalanina

MeGly: N-metilglicina

NMeAsn: N ^{α} -metilasparagina

10 En la especificación, los péptidos se muestran de acuerdo con el modo convencional de describir los péptidos; es decir, el extremo amino se muestra a la izquierda y el extremo carboxilo a la derecha.

En resumen, el compuesto de la presente invención es un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos de 8 restos del extremo carboxilo de la NMU en el que están sustituidos de 1 a 4 aminoácidos, y que está unido a un metoxipolietilenglicol mediante un conector. Más específicamente, tal compuesto es un derivado y conjugado de la neuromedina U.

15 La secuencia de aminoácidos de 8 restos del extremo carboxilo de NMU está representada por la SEQ ID n.º 1 (Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂). En la presente especificación, la frase «polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1 cuyos aminoácidos 1 a 4 están sustituidos» se pueden citar simplemente como «péptido para ser utilizado en la presente invención». Al primer resto de aminoácido del extremo amino se le asigna la posición 1 de acuerdo con el modo convencional de describir los péptidos.

20 El péptido utilizado en la presente invención está unido a un conector, preferiblemente en el grupo amino α del extremo amino.

Más adelante se explicarán los términos utilizados en la fórmula (I) solos o utilizados en común en las fórmulas (I), (II) y (III). Y representa un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1 cuyos aminoácidos 1 a 4 están sustituidos, a saber, un péptido para ser usado en la presente invención.

25 Cuando están sustituidos 3 o 4 aminoácidos, la sustitución de aminoácidos incluye preferiblemente al menos una de las siguientes sustituciones: sustitución de la Tyr de la posición 1; sustitución de la Phe de la posición 2; sustitución de la Leu de la posición 3; sustitución de la Arg de la posición 5; y sustitución de la Pro de la posición 6.

<Realización 1>

30 La sustitución de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1 se selecciona de lo siguiente:

- (1) sustitución de la Tyr de la posición 1 por Arg, Phe, NMeTyr o Pro;
- (2) sustitución de la Phe de la posición 2 por Glu, Tyr, Trp o Nal(2);
- (3) sustitución de la Leu de la posición 3 por Gln, Arg, Val, Cha o NMeLeu;
- (4) sustitución de la Phe de la posición 4 por Trp;
- 35 (5) sustitución de la Arg de la posición 5 por Gln o NMeArg;
- (6) sustitución de la Pro de la posición 6 por Ala o NMeAla; y
- (7) sustitución de la Arg de la posición 7 por Arg(Me) o NMeArg.

En vistas de la estabilidad metabólica, la sustitución de los aminoácidos incluye, preferiblemente, (1) la sustitución de la Arg de la posición 5 por NMeArg; (2) la sustitución de la Arg de la posición 7 por Arg(Me); o ambas.

40 Más preferiblemente, la sustitución de los aminoácidos incluye (1) la sustitución de la Phe de la posición 2 por Nal(2); (2) sustitución de la Pro de la posición 6 por NMeAla; o ambas.

El número de aminoácidos sustituidos es preferiblemente 1 o 2, y más preferiblemente 1.

El péptido para ser usado en la presente invención tiene sustancialmente la misma actividad que la neuromedina U.

«Ejemplos de actividades que son sustancialmente iguales a las de la neuromedina U» incluyen una actividad de

fijación al FM3, actividad de fijación al TGR1 y actividad anorexígena. «Sustancialmente igual» significa que las propiedades son característicamente (p. ej., fisiológicamente o farmacológicamente) similar. Aunque es deseable que estas actividades sean similares (p. ej., aproximadamente de 0,01 a 100 veces, preferiblemente, aproximadamente de 0,1 a 10 veces, y más preferiblemente de 0,5 a 2 veces), la potencia de estas actividades pueden ser diferentes. Estas actividades se pueden medir de acuerdo con los procedimientos descritos en los ejemplos de esta especificación.

El péptido para ser utilizado en la presente invención es en particular preferiblemente un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID n.º 2 a 10 y 12 a 20:

Tyr-Phe-Leu-Phe-Gln-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 2);
 Tyr-Phe-Gln-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 3);
 Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 4);
 Tyr-Phe-Val-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 5);
 Tyr-Tyr-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 6);
 Tyr-Phe-Cha-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 7);
 Arg-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 8);
 Pro-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 9);
 Phe-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 10);
 Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asp-NH₂ (SEQ ID n.º 11);
 Tyr-Phe-Leu-Phe-NMeArg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 12);
 Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg(Me)-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 13);
 Tyr-Phe-NMeLeu-Phe-Arg-Pro-NMeArg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 14);
 NMeTyr-Phe-NMeLeu-Phe-NMeArg-Pro-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 15);
 Tyr-Trp-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 16);
 Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 17);
 Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 18);
 Tyr-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 19); y
 Tyr-Nal(2)-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂ (SEQ ID n.º 20).

10 En otra realización (realización 2) de la presente invención, el péptido para ser usado en la presente invención es un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos presentada en una de las SEQ ID n.º 2 a 9. Como queda claro a partir de lo anterior, el extremo carboxilo en las SEQ ID n.º 2 a 20 está amidado (es decir, el -OH del grupo carboxilo (-COOH) está reemplazado por NH₂).

15 El péptido para ser usado en la presente invención puede proceder de las células de animales homeotermos (p. ej., humanos, ratones, ratas, conejillos de Indias, hámsters, conejos, ovejas, cabras, cerdos, bóvidos, caballos, pájaros, gatos, perros, monos y chimpancés) [p. ej., esplenocitos, células nerviosas, gliocitos, células β pancreáticas, células de la médula ósea, células mensangiales, células de Langerhans, células epidérmicas, células epiteliales, células caliciformes, células endoteliales, células del músculo liso, fibroblastos, fibrocitos, micocitos, adipocitos, células inmunitarias (p. ej., macrófagos, linfocitos T, linfocitos B, linfocitos citolíticos naturales, mastocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos y células dendríticas), megacariocitos, células sinoviales, condrocitos, osteocitos, osteoblastos, osteoclastos, células de mamíferos, hepatocitos o células intersticiales y las correspondientes células precursoras, células madre y células cancerosas], o de cualquier tejido donde tales células están presentes [por ejemplo, encéfalo o partes del encéfalo (p. ej., bulbo olfativo, núcleo amigdalino, ganglios basales, hipocampo, tálamo, hipotálamo, corteza cerebral, bulbo raquídeo y cerebelo), médula espinal, hipófisis, estómago, páncreas, riñón, hígado, gónadas, glándula tiroidea, vesícula biliar, médula ósea, glándula suprarrenal, piel, músculo, pulmón, tubo digestivo (p. ej., intestino grueso e intestino delgado), vaso sanguíneo, corazón, timo, bazo, glándula submandibular, sangre periférica, próstata, testículo, ovario, placenta, útero, hueso, articulación, tejido adiposo, músculo esquelético y peritoneo]. El péptido para ser utilizado en la presente invención se puede sintetizar químicamente o en un sistema de traducción acelar. Otra posibilidad es que el péptido para ser usado en la presente invención pueda ser un péptido genéticamente modificado producido por un transformante en el cual se induce un ácido nucleico que contiene una secuencia de bases que codifica la secuencia de aminoácidos.

X representa un metoxipolietilenglicol.

X' está ausente o representa un metoxipolietilenglicol.

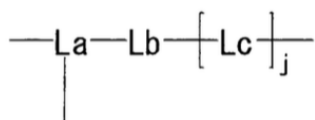
X' está preferiblemente ausente.

35 El «metoxipolietilenglicol» representado por X y X' puede ser lineal o ramificado. La masa molecular (o masa molecular media) del «metoxipolietilenglicol» y el «polietilenglicol» no está particularmente limitada y es

preferiblemente aproximadamente de 10.000 a 40.000 Da, preferiblemente aproximadamente de 20.000 a 40.000 Da, más preferiblemente aproximadamente de 20.000 a 35.000 Da, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 20.000 Da.

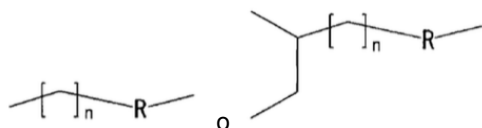
- 5 El «metoxipolietilenglicol» se representa mediante la fórmula: $\text{MeO}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-$ en donde n representa el grado de la polimerización (o el grado de polimerización media), que es preferiblemente aproximadamente de 350 a 1350 y más preferiblemente aproximadamente de 450 a 1350.

La estructura parcial representada por:



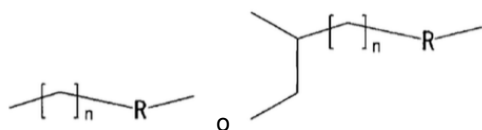
- 10 en la fórmula (I) es un conector que conecta un «metoxipolietilenglicol» representado por X y X' a un polipéptido representado por Y. El conector no está particularmente limitado y se pueden utilizar los conectores que se suelen utilizar para la PEGilación de los polipéptidos.

La es un grupo divalente o trivalente representado por la fórmula



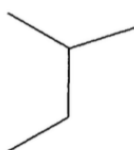
(en donde R representa un enlace

- 15 La es preferiblemente un grupo divalente o trivalente representado por la fórmula



(en donde R representa un enlace y n es un entero de 0).

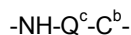
Específicamente, La es preferiblemente un enlace o



- 20 Lb representa $-(\text{CH}_2)_i-$ (en donde i es un entero de 1 a 5).

Lb es preferiblemente $-(\text{CH}_2)_3-$ (en donde i es un entero de 3).

Lc es un grupo divalente representado por la fórmula (i):



(en donde Q^c es un grupo divalente representado por la fórmula:

- 25 $-(\text{CH}_2)_{m1}-$

(en donde m1 es un entero de 0 a 15), y

C^b representa un enlace, $-\text{CO}-$ o $-\text{SO}_2-$, o

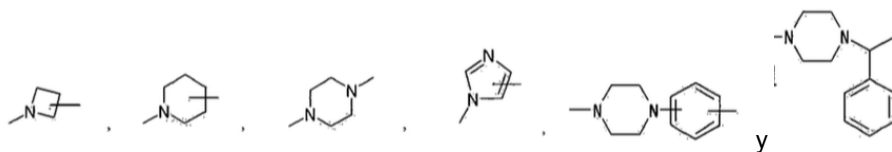
un grupo divalente representado por la fórmula (ii):



- 30 (en donde $\text{Q}^{c'}$ representa la fórmula: $-(\text{CH}_2)_{m1}-\text{Z}^{c'}-(\text{CH}_2)_{m2}-$

(en donde $m1'$ es un entero de 0 a 15,

Z^c representa un grupo divalente seleccionado de



y

5 $m2'$ es un entero de 0 a 15), y

$C^{b'}$ representa un enlace, $-CO-$ o $-SO_2-$).

j es un entero de 1 a 3, y

j es preferiblemente un entero de 1 o 2.

10 La distancia desde el átomo de nitrógeno más cercano al Lb del Lc al átomo de nitrógeno del extremo amino del polipéptido representado por Y es preferiblemente de 3,5 a 30 Å, y más preferiblemente de 3,5 a 15 Å.

Lc es preferiblemente un grupo divalente representado por la fórmula (i): $-NH-Q^c-C^{b'}$ -

[en donde Q^c es un grupo divalente representado por la fórmula: $-(CH_2)_{m1}-$ (en donde $m1$ es un entero de 0 a 15) y $C^{b'}$ representa un enlace, $-CO-$ o $-SO_2-$].

15 Preferiblemente, la distancia del átomo de nitrógeno del NH de la fórmula: $-NH-Q^c-C^{b'}$ - al átomo de nitrógeno del extremo amino del polipéptido representado por Y es de 3,5 a 7,0 Å.

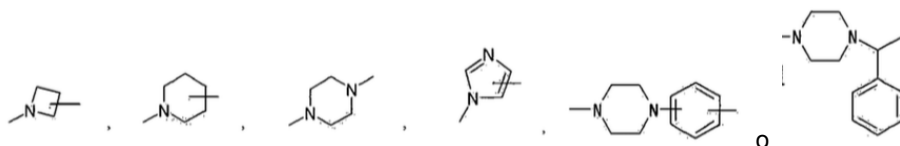
El átomo de nitrógeno del NH de la fórmula: $-NH-Q^c-C^{b'}$ - está marcado con un asterisco (*) en la fórmula que viene a continuación.

$-N^*H-Q^c-C^{b'}$ -

Preferiblemente, Lc es un grupo divalente representado por la fórmula (ii): $-Q^c-C^{b'}$ -

20 [en donde Q^c es un grupo divalente representado por la fórmula:

$-(CH_2)_{m1}-Z^c-(CH_2)_{m2}-$ (en donde $m1'$ es un entero de 0 a 15, Z^c representa



y $m2'$ es un entero de 0 a 15), y

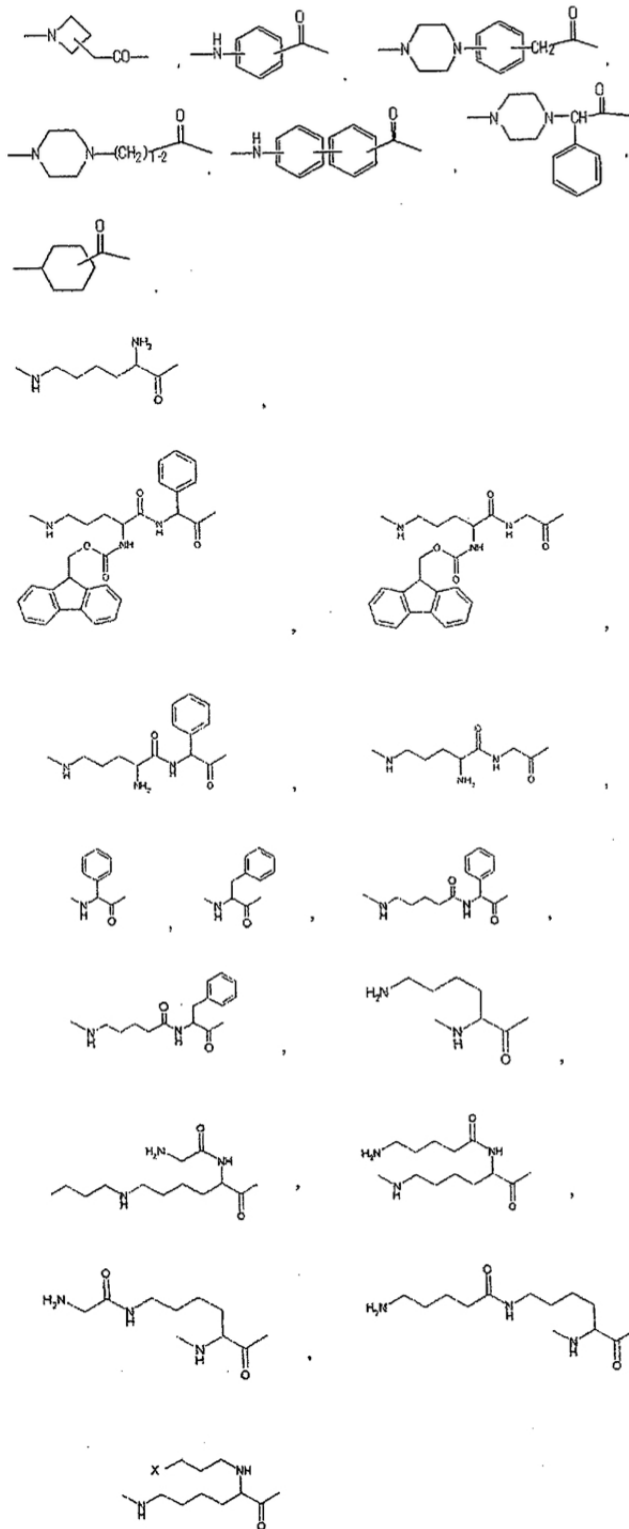
$C^{b'}$ representa un enlace, $-CO-$, o $-SO_2-$].

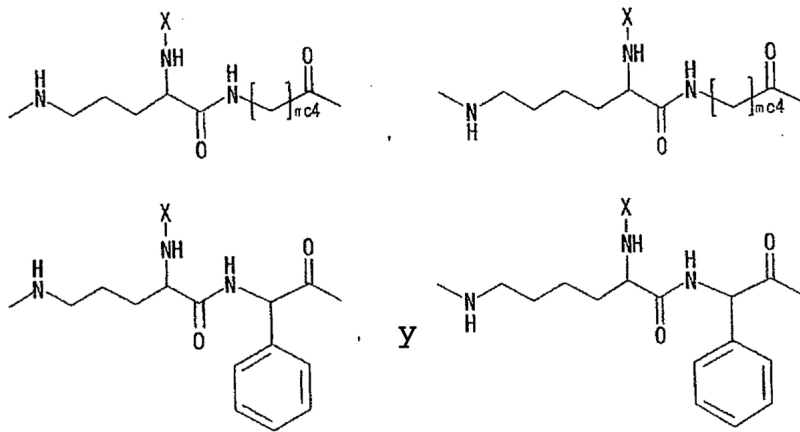
25 Preferiblemente, la distancia desde el átomo de nitrógeno más cercano al Lb de Z^c al átomo de nitrógeno del extremo amino del polipéptido representado por Y es de 5 a 10 Å.

Cada una de estas distancias es una distancia interatómica en una estructura tridimensional estable que se obtiene al someter un modelo molecular tridimensional de un compuesto o de una estructura parcial del mismo a un modelo molecular comercial y el programa informático de cálculo (p. ej., Gaussian, MOPAC, AMBER, CHARMM, MOE, Insight, etc., vendido por Ryoka Systems Inc.) para hacer los cálculos de estabilización de la energía como una estructura extendida. En cada programa informático, los parámetros vienen ajustados de tal manera que la distancia interatómica corresponde a la distancia interatómica estimada por el análisis estructural del cristal por rayos X (por ejemplo, Cambridge Structural Database, etc.). Por ejemplo, el error de las moléculas que consisten en aproximadamente 20 átomos pesados comunes es de menos de 0,2 Å (respecto a AMBER, véase *J. Am. Chem.*

35 *Soc.* 106, 765-784).

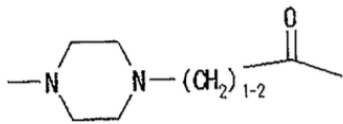
(Lc)_i es preferiblemente (a) un enlace, o (b) un grupo divalente seleccionado de $-NH-(CH_2)_{m1}-CO-$, $-NH-(CH_2)_{m2}-CO-NH-(CH_2)_{m3}-CO-$,



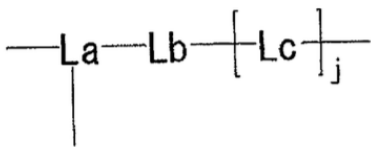


(en donde mc1 es un entero de 1 a 11, mc2 y mc3 representan independientemente un entero de 1 a 5 (preferiblemente con tal que la suma de mc2 y mc3 sea de 4 a 7), mc4 es un entero de 1 a 5 y X es como se define más arriba).

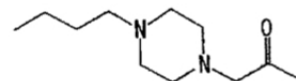
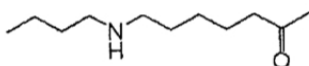
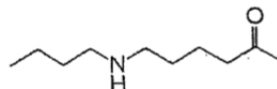
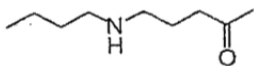
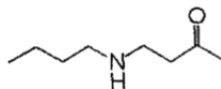
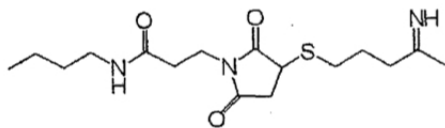
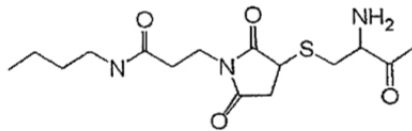
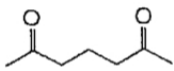
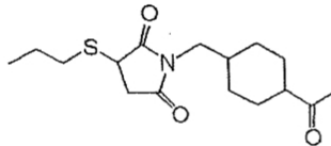
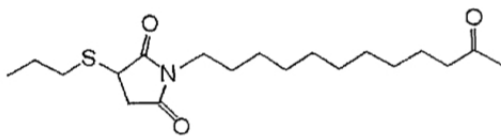
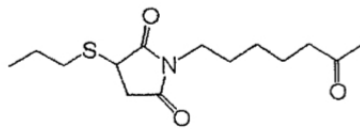
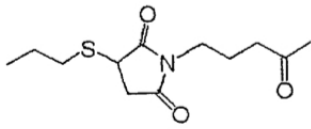
5 Preferiblemente, Lb es un enlace y (Lc)_j es



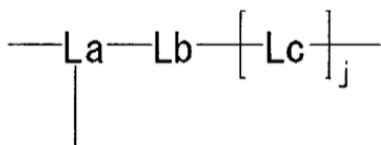
La estructura parcial representada por:



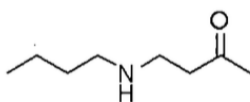
es preferiblemente



La estructura parcial representada por:

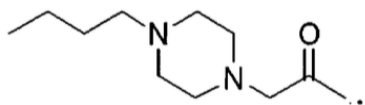


es particularmente preferiblemente

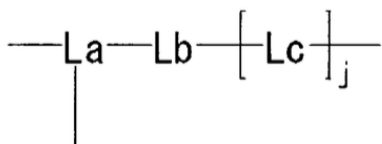


5

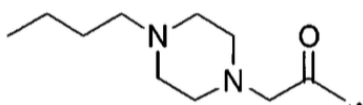
o



Preferiblemente, el resto representado por la estructura parcial:



es

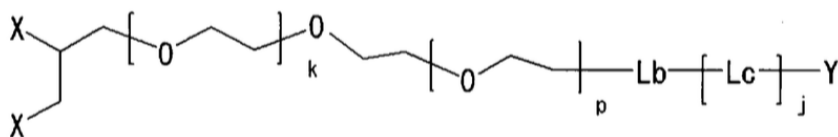


5

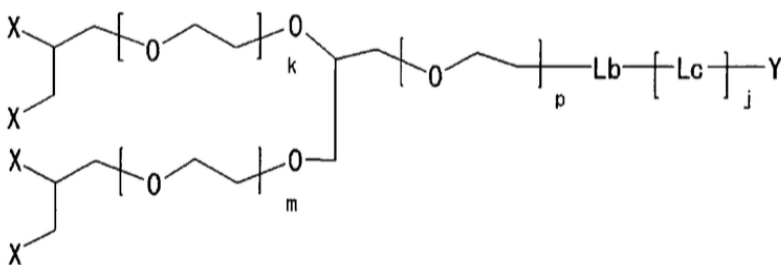
En las realizaciones anteriores se explicaron los conectores de cadena lineal y los conectores de 2 ramas que pueden conectar dos moléculas de metoxipoliéterenglicol. En otras realizaciones de la presente invención se puede utilizar un conector que está ramificado en muchas ramas y que puede de este modo conectar numerosos metoxipoliéterenglicoles.

- 10 Por ejemplo, una estructura de conector de 4 ramas se puede diseñar fácilmente por ramificación de una porción de alqueno del conector de 2 ramas.

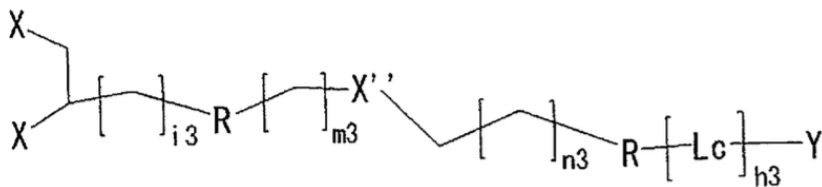
Por ejemplo, cuando el derivado de la neuromedina U de la presente invención que tiene un conector de 2 ramas tiene la estructura siguiente:



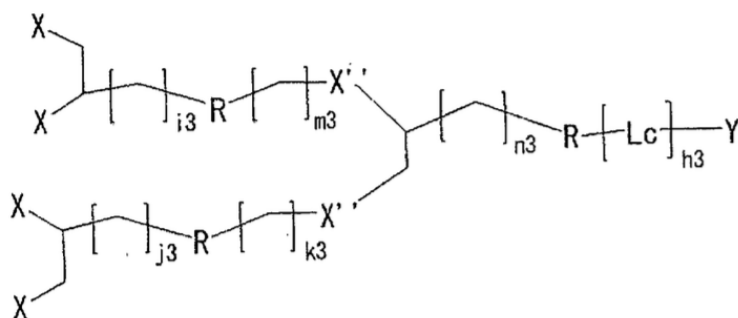
- 15 se puede diseñar una estructura de conector de 4 ramas como viene a continuación.



Además, cuando el derivado de la neuromedina U de la presente invención que tiene un conector con 2 ramas tiene la siguiente estructura:



- 20 se puede diseñar como sigue una estructura de conector de 4 ramas.



De igual forma, se pueden diseñar conectores de 6 ramas, 8 ramas y 10 ramas hasta 32 ramas. Estos conectores también se pueden utilizar en los derivados de la neuromedina U de la presente invención.

El derivado de la neuromedina U que tiene un conector de 4 ramas se explicará a continuación.

- 5 Una realización de un derivado de la neuromedina U es el compuesto (II) según se define más arriba.

En la fórmula (II), k es un entero de 1 a 100, m es un entero de 1 a 100 y p es un entero de 1 a 100.

Otros símbolos son según se explica más arriba.

Otra realización del derivado de la neuromedina U de la presente invención que tiene un conector de 4 ramas es el compuesto (III) según se define más arriba.

- 10 En la fórmula (III), h₃ es un entero de 0 a 3; e i₃, j₃, k₃, m₃ y n₃ son iguales o diferentes, y cada una representa un entero de 0 a 5.

Otros símbolos son según se explica más arriba.

[Procedimiento de producción]

El procedimiento para producir el derivado de neuromedina de la presente invención se explicará a continuación.

- 15 Los derivados de neuromedina de la presente invención se pueden producir por la fijación, mediante un conector, de un metoxipolietilenglicol a un péptido para ser utilizado en la presente invención.

El péptido utilizado en el derivado de neuromedina de la presente invención se puede preparar a partir de las células o tejidos de animales homeotermos antes mencionados mediante un procedimiento conocido de purificación de péptidos. Específicamente, se homogeneizan los tejidos o las células de los animales homeotermos, y se aíslan las fracciones solubles y se purifican por cromatografía, tal como la cromatografía de fase inversa, la cromatografía de intercambio de iones y la cromatografía de afinidad para preparar un derivado de neuromedina de la presente invención.

- 20 Además, el péptido utilizado en el derivado de la neuromedina de la presente invención se puede comprar como un producto comercial.

- 25 El péptido utilizado en el derivado de neuromedina de la presente invención se puede producir de acuerdo con un procedimiento de síntesis de péptidos conocido por sí mismo.

El procedimiento de síntesis de péptidos puede ser, por ejemplo, un procedimiento de síntesis en fase sólida o un procedimiento de síntesis en fase líquida. Se puede producir una proteína deseada por condensación de un péptido parcial o aminoácidos que pueden formar el derivado de la neuromedina de la presente invención, y la porción restante, y por eliminación de cualquier grupo protector que el producto resultante pueda tener.

- 30 La condensación y la eliminación del grupo protector se puede realizar de acuerdo con los procedimientos conocidos *per se*, tal como los descritos en (1) a (5) a continuación:

(1) M. Bodanszky y M. A. Ondetti, *Peptide Synthesis*, Interscience Publishers, Nueva York (1966);

(2) Schroeder y Luebke, *The Peptide*, Academic Press, Nueva York (1965);

- 35 (3) Nobuo Izumiya et al.: *Peptide Gosei-no-Kiso to Jikken* (Fundamentos y experimentos de síntesis de péptidos), publicado por Maruzen Co. (1975);

(4) Haruaki Yajima y Shunpei Sakakibara: *Seikagaku Jikken Koza* (Serie de conferencias de experimentos de bioquímica) 1, *Tanpakushitsu no Kagaku* (Química de proteínas) IV, 205 (1977); y

- (5) Haruaki Yajima, ed: *Zoku Iyakuhin no Kaihatsu* (Desarrollo de fármacos de segunda generación), Vol. 14, *Peptide Synthesis*, publicado por Hirokawa Shoten.

El derivado de neuromedina de la presente invención así obtenido se puede aislar y purificar mediante los procedimientos de purificación que se conocen.

- 5 Además, el péptido para ser utilizado en la presente invención se puede producir también mediante el cultivo de un transformante que contiene un ácido nucleico que codifica el péptido, y el aislamiento y purificación del péptido para ser utilizado en la presente invención a partir del cultivo obtenido.

- 10 El ácido nucleico que codifica el péptido utilizado en la presente invención puede ser ADN o ARN, o una quimera de ADN/ARN, y es preferiblemente ADN. El ácido nucleico puede ser monocatenario o bicatenario. El ácido nucleico bicatenario puede ser ADN bicatenario, ARN bicatenario o un híbrido de ADN-ARN. El ácido nucleico monocatenario puede ser una hebra sentido (a saber, hebra codificante) o una hebra antisentido (a saber, una hebra no codificante).

- 15 Los ejemplos de ADN que codifican el péptido para ser utilizado en la presente invención incluyen ADN genómico; ADNc procedente de cualquier célula de los animales homeotermos (p. ej., humanos, ratones, ratas, conejillos de Indias, hámsters, conejos, ovejas, cabras, cerdos, bóvidos, caballos, pájaros, gatos, perros, monos y chimpancés) [p. ej., esplenocitos, células nerviosas, gliocitos, células β pancreáticas, células de la médula ósea, células mesangiales, células de Langerhans, células epidérmicas, células epiteliales, células endoteliales, fibroblastos, fibrocitos, miocitos, adipocitos, células inmunitarias (p. ej., macrófagos, linfocitos T, linfocitos B, linfocitos citolíticos naturales, mastocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos y células dendríticas), megacariocitos, células sinoviales, condrocitos, osteocitos, osteoblastos, osteoclastos, células de mamífero, hepatocitos o células intersticiales y las correspondientes células precursoras, células madre o células cancerosas y células sanguíneas] o de cualquier tejido en donde tales células están presentes [por ejemplo, encéfalo o partes del encéfalo (p. ej., bulbo olfativo, núcleo amigdalino, ganglios basales, hipocampo, tálamo, hipotálamo, núcleo subtalámico, corteza cerebral, bulbo raquídeo, cerebelo, lóbulo occipital, lóbulo frontal, lóbulo temporal, putamen, núcleo caudado, cuerpo caloso, sustancia negra), médula espinal, hipófisis, estómago, páncreas, riñón, hígado, gónada, glándula tiroidea, vesícula biliar, médula ósea, glándula suprarrenal, piel, músculo, pulmón, tubo digestivo (p. ej., intestino grueso e intestino delgado), vaso sanguíneo, corazón, timo, bazo, glándula submandibular, sangre periférica, hemocito periférico, próstata, testículo, ovario, placenta, útero, hueso, articulación, músculo esquelético y peritoneo]; y ADN sintético.

- 20 El ADN genómico y el ADNc que codifican el péptido para ser utilizado en la presente invención se puede amplificar directamente de acuerdo con un procedimiento conocido por sí mismo, por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa (en adelante se denominará el «procedimiento de PCR») y la PCR acoplada a transcriptasa inversa (en adelante abreviada como el «procedimiento de RT-PCR») con una fracción de ADN genómico y el ARN total o una fracción de ARNm preparado de las células o tejidos antes mencionados como plantillas. Otra posibilidad es que el ADN genómico y el ADNc que codifican el péptido para ser utilizado en la presente invención se pueden clonar respectivamente de una genoteca de ADN genómico y de una genoteca de ADNc que se preparan mediante la introducción de ADN genómico y de ARN total o un fragmento de ARNm preparado de las células y los tejidos mencionados anteriormente en un vector adecuado, mediante un procedimiento conocido por sí mismo, tal como hibridación de colonias o en placas o la PCR. El vector a utilizar en las genotecas puede ser, por ejemplo, cualquier bacteriófago, plásmido, cósmido y fagémido.

- 40 El derivado de la neuromedina de la presente invención se puede sintetizar, por ejemplo, mediante cualquiera de los procedimientos siguientes.

- (1) Un reactante de PEGilación que contiene un éster activo (p. ej., SUNBRIGHT MEGC-30-TS (marca comercial), NOF Corporation) se fija al grupo amino del péptido a utilizar en la presente invención.
- (2) Un reactante de PEGilación que contiene un aldehído (p. ej., SUNBRIGHT ME-300-AL (marca comercial), NOF Corporation) se fija al grupo amino del péptido a utilizar en la presente invención.
- 45 (3) Un reactivo divalente para entrecruzamiento (p. ej., GMBS (Dojindo Laboratories), EMCS (Dojindo Laboratories), KMUS (Dojindo Laboratories), SMCC (Pierce)) se fija al péptido a utilizar en la presente invención y posteriormente se fija un reactante de PEGilación que contiene un grupo tiol (p. ej., SUNBRIGHT ME-300-SH (marca comercial), NOF Corporation). En este caso, el conector del derivado de la neuromedina de la presente invención procede del reactante de PEGilación y del reactante divalente para entrecruzamiento.
- 50 (4) Un agente de introducción de SH (p. ej., resto de D-cisteína, resto de L-cisteína, reactivo de Traut) se introduce en el péptido a utilizar en la presente invención, y un reactante de PEGilación que contiene un grupo maleimida (p. ej., SUNBRIGHT ME-300-MA (marca comercial), NOF Corporation) se hace reaccionar con este grupo tiol. En este caso, el conector del derivado de la neuromedina de la presente invención procede del reactante de PEGilación y del agente de introducción de SH.
- 55 (5) Un agente de introducción de SH (p. ej., resto de D-cisteína, resto de L-cisteína, reactivo de Traut) se introduce en el péptido a utilizar en la presente invención, y un reactante de PEGilación que contiene un

grupo yodo-acetamida (p. ej., SUNBRIGHT ME-300-IA (marca comercial), NOF Corporation) se hace reaccionar con este grupo tiol. En este caso, el conector del derivado de la neuromedina de la presente invención procede del reactante de PEGilación y del agente de introducción de SH.

- 5 (6) El ácido ω -aminocarboxílico o el α -aminoácido se introduce como un conector en el grupo amino del extremo amino del péptido a utilizar en la presente invención, y un reactante de PEGilación que contiene un éster activo (p. ej., SUNBRIGHT MEGC-30-TS (marca comercial), NOF Corporation) se hace reaccionar con el grupo amino procedente de este conector. En este caso, el conector del derivado de la neuromedina de la presente invención procede del reactante de PEGilación y del ácido ω -aminocarboxílico, o del reactante de PEGilación y del α -aminoácido.
- 10 (7) El ácido ω -aminocarboxílico o el α -aminoácido se introduce como un conector en el grupo amino del extremo amino del péptido a utilizar en la presente invención y un reactante de PEGilación que contiene un grupo aldehído (p. ej., SUNBRIGHT MEGC-30-AL (marca comercial), NOF Corporation) se hace reaccionar con el grupo amino procedente de este conector. En este caso, el conector del derivado de la neuromedina de la presente invención procede del reactante de PEGilación y del ácido ω -aminocarboxílico, o del reactante de PEGilación y del α -aminoácido.
- 15

Los reactivos mencionados más arriba se pueden obtener, por ejemplo, como productos comerciales. Cada reacción se puede llevar a cabo mediante un procedimiento conocido por los expertos en la técnica.

- 20 El derivado de neuromedina U de la presente invención puede ser una sal. Los ejemplos de tales sales incluyen sales con bases inorgánicas, sales con bases orgánicas, sales con ácidos inorgánicos, sales con ácidos orgánicos y sales con aminoácidos básicos o ácidos.

Los ejemplos preferibles de sales con bases inorgánicas incluyen sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y sales de potasio; sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y sales de magnesio; y sales de aluminio y sales de amonio.

- 25 Los ejemplos preferibles de sales con bases orgánicas incluyen sales con trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitohexilamina, *N,N*-dibenciletilendiamina o similares.

Los ejemplos preferibles de sales con bases inorgánicas incluyen sales con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico o similares.

- 30 Los ejemplos preferibles de sales con ácidos orgánicos incluyen sales con ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico o similares.

Los ejemplos preferibles de sales con aminoácidos básicos incluyen sales con arginina, lisina, ornitina o similares.

Los ejemplos preferibles de sales con aminoácidos ácidos incluyen sales con ácido aspártico, ácido glutámico o similares.

- 35 Cuando el derivado de la neuromedina U de la presente invención se obtiene en un estado libre mediante el procedimiento sintético mencionado más arriba, se puede convertir a una sal de acuerdo un procedimiento usual. Cuando el derivado de la neuromedina U de la presente invención se obtiene como una sal, se puede convertir a una forma libre u otras sales de acuerdo con un procedimiento habitual. El derivado de la neuromedina U de la presente invención obtenido así se puede aislar y purificar de la solución de reacción mediante medios conocidos, tales como transferencia de fase, concentración, extracción con solvente, destilación fraccionada, cristalización, retrocristalización y cromatografía.
- 40

Cuando el derivado de la neuromedina U de la presente invención está presente en forma de un isómero de configuración, diastereoisómero, coformómero, etc., cada uno se puede aislar mediante los medios de separación y purificación mencionados más arriba, si se desea. Cuando el derivado de la neuromedina U es racémico, se puede separar en la forma *S* y en la forma *R* por los medios de resolución ópticos usuales.

- 45 Cuando el derivado de la neuromedina U de la presente invención está presente en forma de un estereoisómero, los que están en forma de isómeros individuales y una mezcla de los mismos están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

El derivado de la neuromedina U de la presente invención puede ser un hidrato o no ser un hidrato. Además, el derivado de la neuromedina U de la presente invención puede ser un solvato o no ser un solvato.

- 50 El derivado de la neuromedina U de la presente invención se puede marcar con un isómero (p. ej., ^3H , ^{14}C o ^{35}S), etc. Además, el derivado de la neuromedina U de la presente invención puede estar sustituido con deuterio.

El derivado de la neuromedina U de la presente invención es útil como anorexígeno o como agente para prevenir o tratar la obesidad.

El derivado de la neuromedina U de la presente invención, que es muy seguro y poco tóxico, se puede administrar como anorexígeno o como agente para prevenir o tratar la obesidad a los mamíferos (p. ej., humanos, ratones, ratas, conejos, ovejas, cerdos, bóvidos, caballos, pájaros, gatos, perros, monos y chimpancés) de una manera usual, por ejemplo, por vía periférica.

- 5 El derivado de la neuromedina U de la presente invención se utiliza típicamente como una composición farmacéutica que se obtiene mediante la formulación del derivado con un vehículo farmacológicamente aceptable de acuerdo con un procedimiento conocido (p. ej., un procedimiento descrito en la Farmacopea Japonesa).

Como vehículos farmacológicamente aceptables, se pueden utilizar diferentes sustancias de arrastre orgánicas o inorgánicas que se utilizan normalmente como materiales para preparaciones farmacéuticas. Los ejemplos de tales

10 sustancias de arrastre incluyen excipientes, lubricantes, aglutinantes y disgregantes para las preparaciones sólidas; y solventes, solubilizantes, agentes de suspensión, agentes de isotonicidad, tamponantes y lenitivos para las preparaciones líquidas. Si fuera necesario, para formular tales preparaciones se pueden utilizar aditivos para preparaciones farmacéuticas, tales como conservantes, antioxidantes, colorantes y edulcorantes.

- 15 Los ejemplos preferibles de excipientes incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, D-sorbitol, almidón, almidón gelatinizado, dextrina, celulosa cristalina, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, carboximetilcelulosa de sodio, goma arábica, pululano, ácido silícico anhidro ligero, silicato de aluminio sintético, aluminometasilicato de magnesio, xilitol, sorbitol y eritritol.

Los ejemplos preferibles de lubricantes incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, sílice coloidal y polietilenglicol 6000.

- 20 Los ejemplos preferibles de aglutinantes incluyen almidón gelatinizado, sacarosa, gelatina, goma arábica, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, trehalosa, dextrina, pululano, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona.

- 25 Los ejemplos preferibles de disgregantes incluyen lactosa, sacarosa, almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de calcio, croscarmelosa de sodio, carboximetilalmidón de sodio, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, ácido silícico anhidro ligero y carbonato de calcio.

Los ejemplos preferibles de solventes incluyen agua para inyección, disolución salina, solución de Ringer, alcohol, propilenglicol, polietilenglicol, aceite de ajonjolí, aceite de maíz, aceite de oliva y aceite de semilla de algodón.

- 30 Los ejemplos preferibles de solubilizantes incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, trehalosa, bencilbenzoato, etanol, tris-aminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio, citrato de sodio, salicilato de sodio y acetato de sodio.

- 35 Los ejemplos preferibles de suspensionantes incluyen tensioactivos tales como esteariltrietaanolamina, laurilsulfato de sodio, ácido laurilaminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio y monestearato de glicerol; polímeros hidrófilos tales como alcohol de polivinilo, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa y hidroxipropilcelulosa; polisorbatos y aceite de ricino hidrogenado y polioxietilenado.

Los ejemplos preferibles de agentes de isotonicidad incluyen cloruro de sodio, glicerina, D-manitol, D-sorbitol, glucosa, xilitol y fructosa.

Los ejemplos preferibles de tamponantes incluyen soluciones tamponantes tales como fosfatos, acetatos, carbonatos y citratos.

- 40 Los ejemplos preferibles de lenitivos incluyen propilenglicol, hidrocloreto de lidocaína y alcohol bencílico.

Los ejemplos preferibles de conservantes incluyen ésteres del ácido p-oxibenzoico, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido de deshidroacético y ácido sórbico.

Los ejemplos preferibles de antioxidantes incluyen sulfitos y ascorbatos.

- 45 Los ejemplos preferibles de colorantes incluyen pigmentos de alquitrán hidrosolubles y comestibles (p. ej., colorantes alimentarios tales como los colorantes alimentarios rojos n.º 2 y 3, colorantes alimentarios amarillos n.º 4 y 5 y colorantes alimentarios azules n.º 1 y 2), pigmentos lacustres insolubles en agua (p. ej., sales de aluminio de los pigmentos de alquitrán comestibles e hidrosolubles mencionados más arriba) y pigmentos naturales (p. ej., β -caroteno, clorofila y óxido de hierro rojo).

Los ejemplos preferibles de edulcorantes incluyen sacarina de sodio, glicirrizato de dipotasio, aspartamo y estevia.

- 50 Los ejemplos de la forma farmacéutica de la composición farmacéutica mencionada más arriba incluyen preparaciones orales tales como comprimidos (entre ellos, comprimidos sublinguales y comprimidos disgregables en la boca), cápsulas (entre ellas, cápsulas blandas y microcápsulas), gránulos, polvos, trociscos, siropes, emulsiones y

suspensiones; y preparaciones parenterales tales como inyecciones (p. ej., inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas, inyecciones intramusculares, inyecciones intraperitoneales e infusiones intravenosas), preparaciones externas (p. ej., preparaciones transdérmicas y ungüentos), supositorios (p. ej., supositorios rectales y supositorios vaginales), microgránulos, preparaciones transnasales, preparaciones pulmonares (inhales) y colirios. Estas preparaciones pueden ser formulaciones de liberación controlada, tales como formulaciones de liberación rápida y formulaciones de liberación prolongada (p. ej., microcápsulas de liberación prolongada).

El contenido del derivado de la neuromedina U en las composiciones farmacéuticas es, por ejemplo, del 0,1 al 100% en peso.

Los procedimientos para fabricar tales preparaciones orales y preparaciones parenterales se explican específicamente a continuación. Las preparaciones orales se pueden producir mediante la adición, por ejemplo, de un excipiente (p. ej., lactosa, sacarosa, almidón, D-manitol, xilitol, sorbitol, eritritol, celulosa cristalina y ácido silícico anhidro ligero), un disgregante (p. ej., carbonato de calcio, almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de calcio, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, croscarmelosa de sodio, carboximetilalmidón de sodio y ácido silícico anhidro ligero), un aglutinante (p. ej., almidón gelatinizado, goma arábiga, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, celulosa cristalina, metilcelulosa, sacarosa, D-manitol, trealosa y dextrina), un lubricante (p. ej., talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, sílice coloidal y polietilenglicol 6000), etc., al ingrediente activo, y mediante compresión en molde de la mezcla.

Además, las preparaciones orales se pueden revestir mediante un procedimiento conocido por sí mismo para el propósito de enmascarar el sabor, revestimiento entérico o liberación prolongada. Los ejemplos de agentes de revestimiento utilizables incluyen polímeros entéricos (p. ej., ftalato de acetato de celulosa, copolímero L de ácido metacrílico, copolímero LD de ácido metacrílico, copolímero S de ácido metacrílico, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa y carboximetilcelulosa), polímeros gastrosolubles (p. ej., dietilaminoacetato de polivinilacetato y copolímero E de aminoalquilmetacrilato), polímeros hidrosolubles (p. ej., hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa), polímeros insolubles en agua (p. ej., etilcelulosa, copolímero RS de aminoalquilmetacrilato y copolímero de acrilato de etilo y metacrilato de metilo) y ceras. Para el revestimiento se pueden utilizar los plastificantes tales como polietilenglicol y agentes protectores de la luz tales como el óxido de titanio y el sesquióxido de hierro junto con los agentes de revestimiento mencionados más arriba.

Las inyecciones se pueden producir por disolución, suspensión o emulsión del ingrediente activo en un solvente acuoso (p. ej., agua destilada, disolución salina y solución de Ringer) o un solvente oleoso (p. ej., un aceite vegetal tal como aceite de oliva, aceite de ajonjolí, aceite de semilla de algodón y aceite de maíz; propilenglicol, macrogol y tricaprilina) junto con un dispersante (p. ej., Tween 80 (fabricado por Atlas Powder, EE.UU.), HCO 60 (fabricado por Nikko Chemicals Co., Ltd.), polietilenglicol, carboximetilcelulosa y alginato de sodio), un conservante (p. ej., metilparabeno, propilparabeno, alcohol bencílico, clorobutanol y fenol), un agente de isotonicidad (p. ej., cloruro de sodio, glicerina, D-sorbitol, D-manitol, xilitol, glucosa y fructosa). En este caso, si se desea, se pueden añadir los siguientes aditivos: un solubilizante (p. ej., salicilato de sodio, acetato de sodio, polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, trehalosa, benzoato de bencilo, etanol, tris-aminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio y citrato de sodio), un agente de suspensión (p. ej., tensioactivos tales como esteariltrietaolamina, laurilsulfato de sodio, ácido laurilaminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio y monoestearato de glicerol; y polímeros hidrófilos tales como alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa), un tamponante (p. ej., soluciones tamponantes tales como fosfatos, acetatos, carboxilatos y citratos), un estabilizante (p. ej., seroalbúmina humana), un lenitivo (p. ej., propilenglicol, hidrocloreuro de lidocaína y alcohol bencílico), y un conservante (p. ej., ésteres de ácido p-oxibenzoico, clorobutanol, cloruro de benzalconio, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido deshidroacético y ácido sórbico).

Las preparaciones externas se pueden producir al formular el ingrediente activo en composiciones sólidas, semisólidas o líquidas.

Por ejemplo, las composiciones sólidas tal y como se mencionó más arriba se pueden producir por pulverización del ingrediente activo tal cual, o por la adición de un excipiente (p. ej., lactosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina y sacarosa), un espesante (p. ej., gomas naturales, derivados de celulosa y polímeros de ácido acrílico) al ingrediente activo, se mezclan y entonces se pulveriza la mezcla. Las composiciones líquidas que se mencionan más arriba se pueden producir de casi la misma manera que las inyecciones. Las composiciones semisólidas son preferiblemente en forma de un gel acuoso u oleoso, o un ungüento. Todas estas composiciones también pueden contener un agente de modulación del pH (p. ej., ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido clorhídrico e hidróxido de sodio) o un conservante (p. ej., ésteres de ácido p-oxibenzoico, clorobutanol, cloruro de benzalconio, alcohol bencílico, alcohol fenético, ácido deshidroacético y ácido sórbico). Los supositorios se pueden producir por la formulación del ingrediente activo en una composición oleosa o acuosa, sólida, semisólida o líquida. Los ejemplos de bases oleosas utilizables para la producción de la composición incluyen glicéridos de ácidos grasos de cadena larga (p. ej., manteca de cacao y varios Witepsol®), triglicéridos de ácidos grasos medianos (p. ej., varios Miglyol®) y aceites vegetales (p. ej., aceite de ajonjolí, aceite de soja y aceite de semilla de algodón). Los ejemplos de bases acuosas incluyen polietilenglicoles y propilenglicoles. Los ejemplos de bases acuosas en gel incluyen gomas naturales,

derivados de celulosa, polímeros de vinilo y polímeros de ácido acrílico.

La dosis del derivado de la neuromedina U de la presente invención se puede seleccionar adecuadamente de acuerdo con el paciente al que se administrará, la vía de administración, la enfermedad destinataria, los síntomas clínicos, etc. Por ejemplo, cuando la composición farmacéutica que contiene el derivado de neuromedina U de la presente invención como ingrediente activo se administra por vía subcutánea a un adulto, el derivado de la neuromedina U como ingrediente activo se da típicamente en una dosis única de aproximadamente 5 a 5000 µg y preferiblemente de aproximadamente 50 a 500 µg por humano. Esta dosis se administra preferiblemente de una a tres veces al día.

El derivado de la neuromedina U de la presente invención se puede utilizar concomitantemente con otros fármacos que no tienen efectos adversos sobre el derivado de neuromedina U de la presente invención con el propósito de estimular la actividad (p. ej., un efecto anorexígeno y un efecto preventivo o terapéutico sobre la obesidad) del derivado de la invención o reducir la cantidad del mismo. Los ejemplos de tales fármacos incluyen «agentes para tratar la diabetes», «agentes para tratar las complicaciones diabéticas», «agentes para tratar la obesidad» y «agentes para tratar la hiperlipidemia». Dos o más de tales fármacos (en adelante a veces se denominarán simplemente «fármacos concomitantes») se pueden combinar en una proporción adecuada para el uso.

Los ejemplos de los «agentes para tratar la diabetes» incluyen preparaciones de insulina (p. ej., preparaciones de insulina animal extraídas del páncreas de bóvidos y cerdos; preparaciones de insulina humana sintetizada por medios genéticos en *Escherichia coli* y levadura; insulina de cinc; insulina de cinc protamina; fragmentos o derivados de insulina (p. ej., INS-1) y preparaciones de insulina orales), sensibilizadores de insulina (p. ej., pioglitazona o una sal de la misma (preferiblemente hidrocloreuro), rosiglitazona o una sal de la misma (preferiblemente maleato), tesaglitazar, ragaglitazar, muraglitazar, edaglitazona, metaglidasen, naveglitazar, AMG-131, THR-0921, inhibidores de la α-glucosidasa (p. ej., voglibosa, acarbosa, miglitol y emiglitato), biguanidas (p. ej., metformina, buformina y sus sales (p. ej., hidrocloreuro, fumarato y succinato)), secretagogos de insulina [sulfonilureas (p. ej., tolbutamida, glibenclamida, gliclazida, clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, glucopiramida, glimepirida, glipizida y glibuzol), repaglinida, nateglinida y mitiglinida o un hidrato de sal de calcio de los mismos], inhibidores de la dipeptidilpeptidasa IV de (p. ej., vildagliptina, sitagliptina, saxagliptina, T-6666 y TS-021), agonistas de β3 (p. ej., AJ-9677), agonista de GPR40, agonistas del receptor de GLP-1 [p. ej., GLP-1, agente GLP-1MR, NN-2211, AC-2993 (exendina 4), BIM-51077, Aib (8,35), hGLP-1 (7,37)NH₂ y CJC-1131], agonistas de amirina (p. ej., pramlintida), inhibidores de la fosfotirosina fosfatasa (p. ej., vanadato de sodio), inhibidores de la gluconeogénesis (p. ej., inhibidores de la glucógeno fosforilasa, inhibidores de la glucosa-6-fosfatasa y antagonistas del glucagón), inhibidores de SGLUT (cotransportador del sodio y glucosa) (p. ej., T-1095), inhibidores de la 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (p. ej., BVT-3498), adiponectina o agonistas de la adiponectina, inhibidores de IKK (p. ej., AS-2868), fármacos que mejoran la resistencia a la leptina, agonistas del receptor de la somatostatina, activadores de la glucocinasa (p. ej., Ro-28-1675) y GIP (péptido insulínotropo dependiente de la glucosa).

Los ejemplos de los «agentes para tratar las complicaciones diabéticas» incluyen inhibidores de la aldosa reductasa (p. ej., tolrestat, epalrestat, zenarestat, zopolrestat, minalrestat, fidaarestat y ranirestat), factores neurótrofos y fármacos que incrementan los factores neurótrofos (p. ej., NGF, NT-3, BDNF, promotores de producción-secreción de factores neurótrofos descritos en la solicitud de patente internacional WO01/14372 (p. ej., 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol)), inhibidores de la PKC (p. ej., mesilato de ruboxistaurina), inhibidores de AGE (p. ej., ALT946, pimagedina, bromuro de *N*-fenaciltiazolio, EXO-226, piridorina y piridoxamina), depuradores del oxígeno activo (p. ej., ácido tióctico), vasodilatadores cerebrales (p. ej., tiaprida y mexiletina), agonistas del receptor de la somatostatina (p. ej., BIM23190), inhibidores de la cinasa 1 reguladora de la señal de la apoptosis (ASK-1) y promotores de la regeneración neuronal (p. ej., Y-128, VX-853 y prosaptida).

Los ejemplos de los «agentes antiobesidad» incluyen agentes centrales antiobesidad (p. ej., dexfenfluramina, fenfluramina, fentermina, sibutramina, anfepramona, dexanfetamina, mazindol, fenilpropanolamina y clobenzorex; antagonistas del neuropéptido Y (p. ej., CP-422935); antagonistas del receptor de cannabinoides (p. ej., SR-141716 y SR-14778); antagonistas de la grelina; inhibidores de la 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (p. ej., BVT-3498), inhibidores de la lipasa pancreática (p. ej., orlistat, cetilistat, agonista de β3 (p. ej., AJ-9677), antialimentarios peptídicos (p. ej., leptina, CNTF (factor neurótrofo ciliar), agonistas de la colescistoquinina (p. ej., lintitript y FPL-15849) y agentes anorexígenos (p. ej., P-57).

Los ejemplos de «agentes para tratar la hiperlipidemia» incluyen inhibidores de la HMG-CoA reductasa (p. ej., pravastatina, simvastatina, lovastatina, atorvastatina, fluvastatina, rosuvastatina, pitavastatina y sus sales (p. ej., sales de sodio y sales de calcio)), inhibidores de la escualeno sintasa (p. ej., los compuestos descritos en la solicitud de patente internacional WO 97/10224, por ejemplo, el ácido *N*-[[[(3*R*, 5*S*)-1-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-7-cloro-5-(2,3-dimetoxifenil)-2-oxo-1,2,3,5-tetrahydro-4,1-benzoxazepin-3-il]acetil]piperidin-4-acético), compuestos de fibrato (p. ej., bezafibrato, clofibrato, sinfibrato y clinofibrato), inhibidores de ACAT (p. ej., avasimiba y eflucimiba), resinas de intercambio de aniones (p. ej., colestiramina), probucol, fármacos del ácido nicotínico (p. ej., nicomol y niceritrol), icosapentato de etilo y fitoesteroles (p. ej., sojasterol y γ-orizanol).

La cronología de la administración del fármaco concomitante no está limitada. El compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se pueden administrar al sujeto simultáneamente o por separado a intervalos

alternos. La dosis del fármaco concomitante se puede determinar basándose en la dosis clínicamente utilizada y se puede seleccionar adecuadamente según el sujeto al que se administra, la vía de administración, la enfermedad, la combinación, etc.

El modo de administración del fármaco concomitante con el compuesto de la presente invención no está particularmente limitado, en la medida en que el compuesto de la presente invención y los fármacos concomitantes se administran en combinación. Los ejemplos del modo de administración son como sigue:

- (1) administración de una única preparación obtenida mediante la formulación simultánea del compuesto de la presente invención con el fármaco concomitante;
- 10 (2) administración simultánea de dos clases de preparaciones, que se obtienen mediante la formulación por separado del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, por una única vía de administración;
- (3) administración escalonada por intervalos de dos clases de preparaciones, que se obtienen mediante la formulación por separado del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, por la misma vía de administración;
- 15 (4) administración simultánea de dos clases de preparaciones, que se obtienen mediante la formulación por separado del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, por diferentes vías de administración; y
- 20 (5) administración escalonada por intervalos de dos clases de preparaciones, que se obtienen mediante la formulación por separado del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, por diferentes vías de administración (por ejemplo, administración en el orden d compuesto de la presente invención y fármaco concomitante, o en el orden inverso).

La proporción de mezcla del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante se pueden seleccionar adecuadamente de acuerdo con el sujeto al que se administra, la vía de administración, la enfermedad, etc.

El compuesto de la presente invención se puede utilizar concurrentemente con el tratamiento dietético (p. ej., tratamiento dietético para la diabetes) y/o el tratamiento con ejercicio.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1-1 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto A o B) a diferentes concentraciones.

30 La figura 1-2 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto C, D o E) a diferentes concentraciones.

La figura 1-3 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto F, G, H, I o J) a diferentes concentraciones.

35 La figura 1-4 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto K) a diferentes concentraciones.

La figura 1-5 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto L, M o N) a diferentes concentraciones.

40 La figura 1-6 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto O, P, Q o R) a diferentes concentraciones.

45 La figura 1-7 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con FM3 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto S, T, U o V) a diferentes concentraciones.

La figura 2-1 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto A o B) a diferentes concentraciones.

50 La figura 2-2 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de $^{125}\text{I-NMU8}$ cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto C, D o E) a diferentes concentraciones.

La figura 2-3 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de ¹²⁵I-NMU8 cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto F, G, H, I o J) a diferentes concentraciones.

5 La figura 2-4 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de ¹²⁵I-NMU8 cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto K) a diferentes concentraciones.

La figura 2-5 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de ¹²⁵I-NMU8 cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto L, M o N) a diferentes concentraciones.

10 La figura 2-6 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de ¹²⁵I-NMU8 cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto O, P, Q o R) a diferentes concentraciones.

La figura 2-7 es un gráfico que muestra la inhibición de la fijación de ¹²⁵I-NMU8 cuando a la fracción de membrana con TGR1 se le añade el derivado de NMU o un conjugado de PEG (compuesto S, T, U o V) a diferentes concentraciones.

15 La figura 3 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada (100 nmol/kg) se administra por vía subcutánea a los ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos A, B).

20 La figura 4 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada (100 nmol/kg) se administra por vía subcutánea a los ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos C a E).

La figura 5 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada (100 nmol/kg) se administra por vía subcutánea a los ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos F a J).

25 La figura 6 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada se administra por vía subcutánea a ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos C, J).

La figura 7 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada se administra por vía subcutánea a ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuesto K).

30 La figura 8 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada se administra por vía subcutánea a ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos L, M, N).

La figura 9 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada se administra por vía subcutánea a ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos P, Q).

La figura 10 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada se administra por vía subcutánea a ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos T, V).

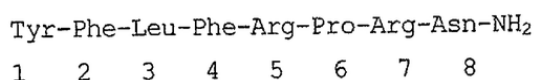
35 La figura 11 es un gráfico que muestra el cambio en la ingestión de alimentos de los ratones cuando la forma NMU-PEGilada se administra por vía subcutánea a ratones en una prueba de ayuno y realimentación (compuestos S, U).

Ejemplos

En adelante, la presente invención se describe con referencia a los ejemplos de comprobación, ejemplos de referencia y ejemplos. Sin embargo, la presente invención no se limita a ellos.

40 En los ejemplos, la SEQ ID n.º 1 o el péptido de SEQ ID n.º 1 a veces se expresa como NMU-8.

El número mostrado después de un aminoácido representa el número del aminoácido. Los números de aminoácidos en la SEQ ID n.º 1 se muestran debajo. Específicamente, la posición de la Tyr en el extremo amino de NMU-8 se considera que es 1 y la posición de la Asn en el extremo carboxilo se considera que es la 8.



45 Por ejemplo, β-Ala⁰Gln⁵-NMU-8, a saber, el compuesto 1 (ejemplo de referencia 1) representa un péptido en el que la β-Ala es un extra en extremo amino (posición 0) de NMU-8, y la Arg de la posición 5 está reemplazada por Gln.

Obsérvese que lo anterior es una notación práctica; la β-Ala es un conector y no forma el polipéptido que se utiliza en la presente invención.

Los siguientes compuestos son los utilizados en los ejemplos de comprobación, ejemplos de referencia y ejemplos. La secuencia de las bases de los restos polipeptídicos en las fórmulas químicas se muestran más arriba como SEQ ID n.º 2 a 20.

- 5 Aquí, el grupo carboxilo de la posición α de la β -Ala está unido al grupo amino (grupo amino en la posición α) del resto aminoacídico que está en el extremo amino del péptido utilizado en la presente invención. Además, el «-NH₂» indica que el -OH del grupo carboxilo (-COOH) del resto aminoacídico del extremo carboxilo del péptido utilizado en la presente invención está reemplazado por -NH₂.

(Compuesto 1)

β -Ala₀, Gln₅-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-Gln-Pro-Arg-Asn-NH₂

- 10 SEQ ID n.º 2

(Compuesto 2)

β -Ala₀, Gln₃-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-Gln-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 3

(Compuesto 3)

β -Ala₀, Arg₃-NMU-8

- 15 β -Ala-Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 4

(Compuesto 4)

β -Ala₀, Val₃-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-Val-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 5

- 20 (Compuesto 5)

β -Ala₀, Tyr₂-NMU-8

β -Ala-Tyr-Tyr-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 6

(Compuesto 6)

β -Ala₀, Cha₃-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-Cha-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

- 25 SEQ ID n.º 7

(Compuesto 7)

β -Ala₀, Arg₁-NMU-8

β -Ala-Arg-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 8

(Compuesto 8)

β -Ala0, Pro1-NMU-8

β -Ala-Pro-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 9

(Compuesto 9)

Arg3-NMU-8

5 Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 4

(Compuesto 10)

NpipAc-Arg3-NMU-8

NpipAc-Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 4

10 (Compuesto 11)

NpipAc0, Phe1, Trp2, Ala6-NMU-8

NpipAc-Phe-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 10

(Compuesto 12)

β -Ala0, Asp8-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asp-NH₂

15 SEQ ID n.º 11

(compuesto 13)

β -Ala0, NMeArg5-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-NMeArg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 12

(Compuesto 14)

β -Ala0, Arg (Me) 7-NMU-8

20 β -Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg (Me) -Asn-NH₂

SEQ ID n.º 13

(Compuesto 15)

β -Ala0, NMeLeu3, NMeArg7-NMU-8

β -Ala-Tyr-Phe-NMeLeu-Phe-Arg-Pro-NMeArg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 14

25 (Compuesto 16)

β -Ala0, NMeTyr1, NMeLeu3, NMeArg5-NMU-8

β -Ala-NMeTyr-Phe-NMeLeu-Phe-NMeArg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 15

(Compuesto 17)

β -Ala0, Trp2, NMeAla6-NMU-8

β -Ala-Tyr-Trp-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 16

5 (Compuesto 18)

β -Ala0, Glu2, NMeAla6-NMU-8

β -Ala-Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 17

(Compuesto 19)

NpipAc0, Glu2, Ala6-NMU-8

NpipAc-Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂

10 SEQ ID n.º 18

(Compuesto 20)

NpipAc0, Trp2, Ala6-NMU-8

NpipAc-Tyr-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 19

(Compuesto 21)

NpipAc0, Glu2, NMeAla6-NMU-8

15 NpipAc-Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 17

(Compuesto 22)

NpipAc0, Na1(2)2, NMeAla6-NMU-8

NpipAc-Tyr-Na1(2)-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

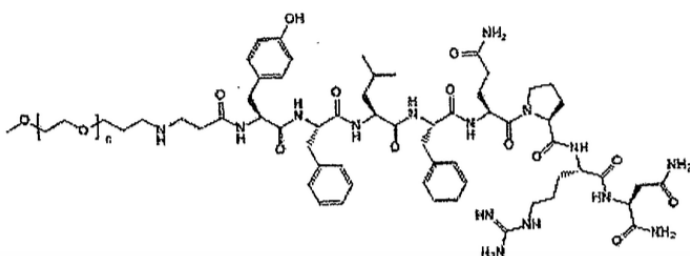
SEQ ID n.º 20

20 (Compuesto A)

PEG30k-NH- β -Ala0, Gln5-NMU-8

PEG30K-NH- β -Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-Gln-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 2

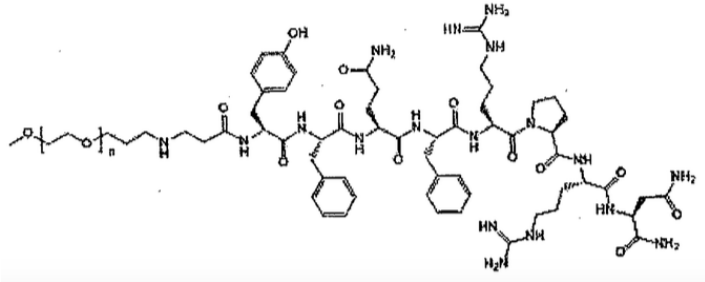


(Compuesto B)

PEG30K-NH-β-Ala0,Gln3-NMU-8

PEG30K-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Gln-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 3

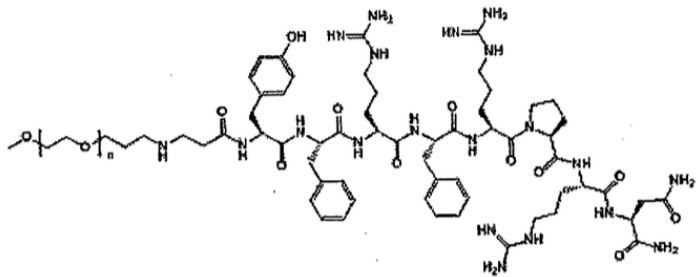


5 (Compuesto C)

PEG30K-NH-β-Ala0,Arg3-NMU-8

PEG30K-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 4

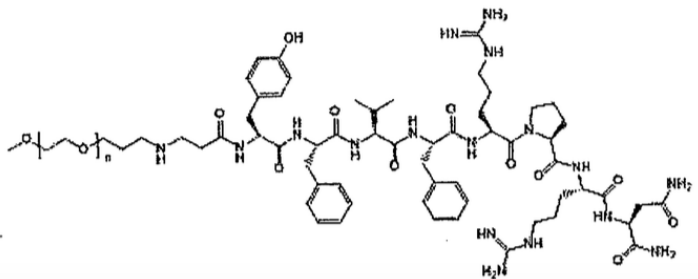


(Compuesto D)

PEG30K-NH-β-Ala0,Val3-NMU-8

10 PEG30K-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Val-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 5

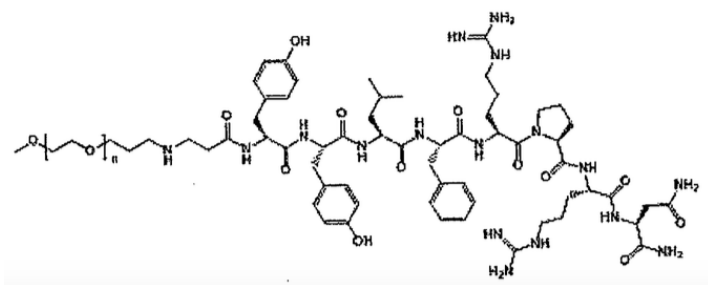


(Compuesto E)

PEG30K-NH-β-Ala0,Tyr2-NMU-8

15 PEG30K-NH-β-Ala-Tyr-Tyr-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 6

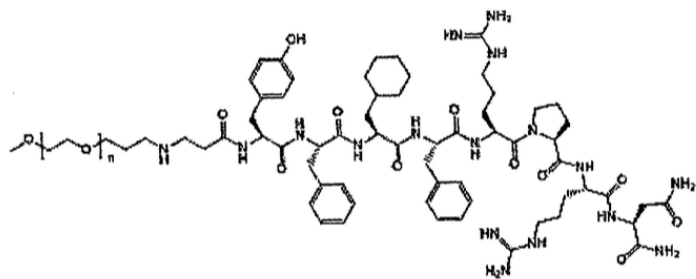


(Compuesto F)

PEG30K-NH-β-Ala0, Cha3-NMU-8

PEG30K-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Cha-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 7



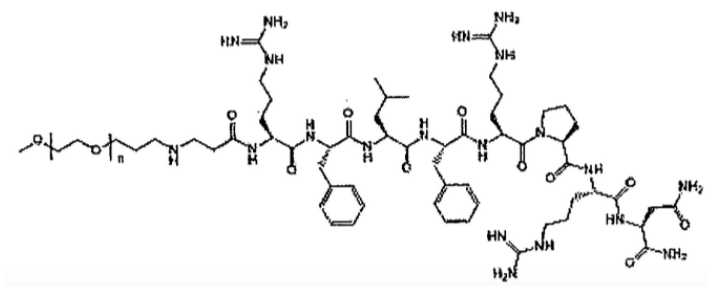
5

(Compuesto G)

PEG30K-NH-β-Ala0, Arg1-NMU-8

PEG30K-NH-β-Ala-Arg-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 8

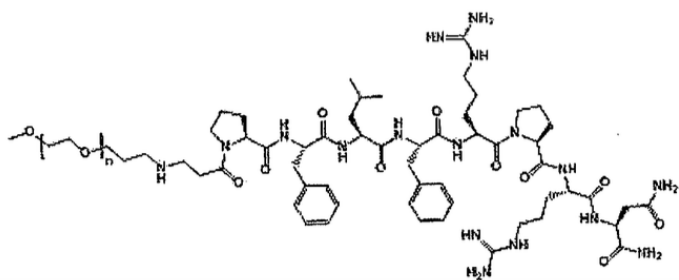


10 (Compuesto H)

PEG30K-NH-β-Ala0, Prol1-NMU-8

PEG30K-NH-β-Ala-Pro-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 9

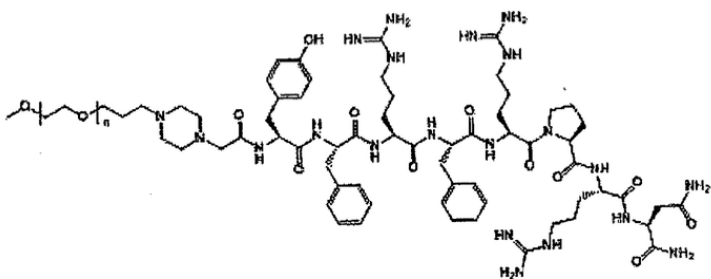


(Compuesto I)

PEG20k-NpipAc0, Arg3-NMU-8

PEG20k-NpipAc-Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 4



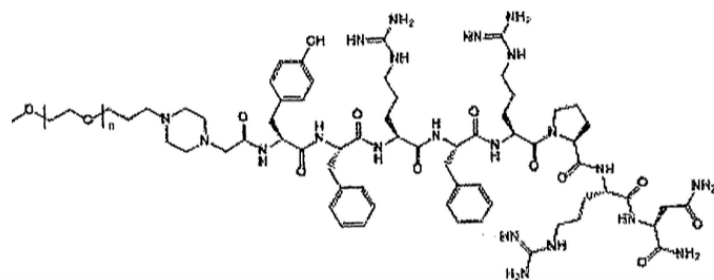
5

(Compuesto J)

PEG30k-NpipAc0, Arg3-NMU-8

PEG30k-NpipAc-Tyr-Phe-Arg-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 4

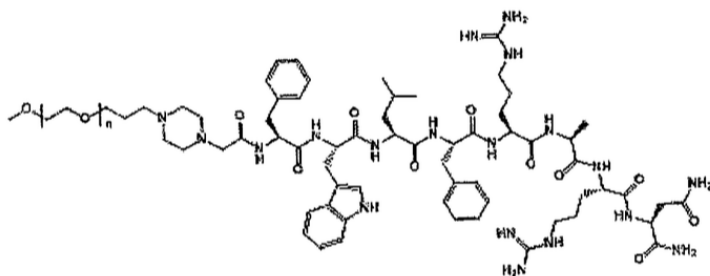


10 (Compuesto K)

PEG20k-NpipAc0, Phe1, Trp2, Ala6-NMU-8

PEG20k-NpipAc-Phe-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n. 10

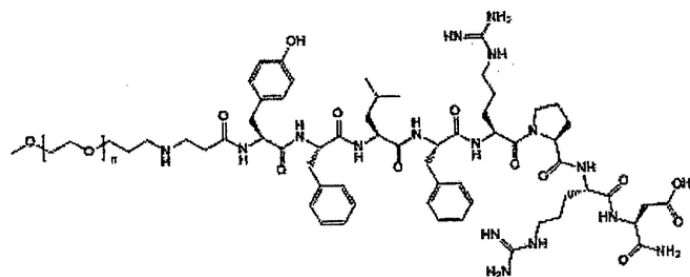


(Compuesto L)

PEG30k-NH-β-Ala0, Asp8-NMU-8

PEG30k-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asp-NH₂

SEQ ID n.º 11



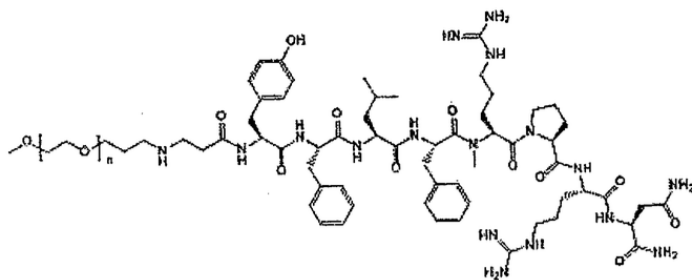
5

(Compuesto M)

PEG30k-NH-β-Ala0, NMeArg5-NMU-8

PEG30k-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-NMeArg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 12



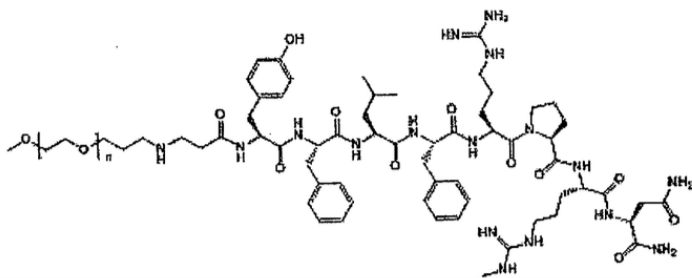
10

(Compuesto N)

PEG30k-NH-β-Ala0, Arg (Me) 7-NMU-8

PEG30k-NH-β-Ala-Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg (Me)-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 13

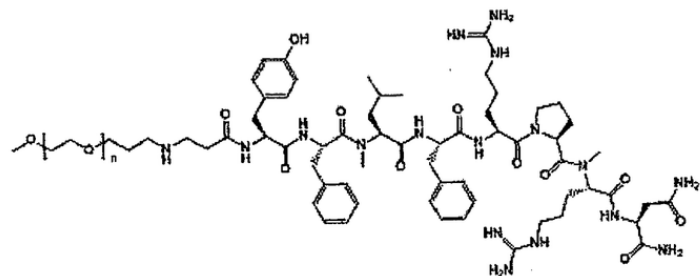


(Compuesto O)

PEG20k-NH-β-Ala0, NMeLeu3, NMeArg7-NMU-8

PEG20k-NH-β-Ala-Tyr-Phe-NMeLeu-Phe-Arg-Pro-NMeArg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 14



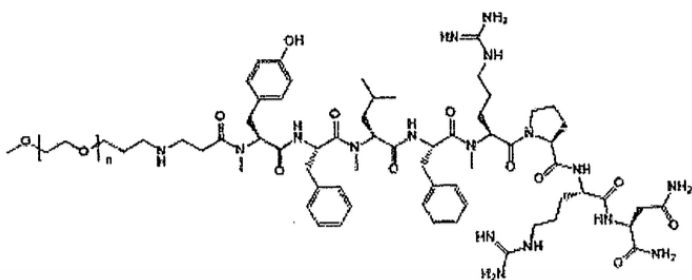
5

(Compuesto P)

PEG20k-NH-β-Ala0, NMeTyr1, NMeLeu3, NMeArg5-NMU-8

PEG20k-NH-β-Ala-NMeTyr-Phe-NMeLeu-Phe-NMeArg-Pro-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 15

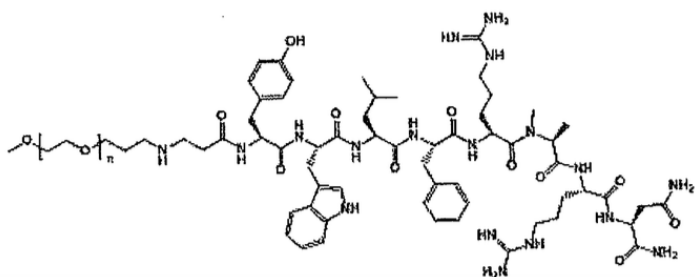


10 (Compuesto Q)

PEG20k-NH-β-Ala0, Trp2, NMeAla6-NMU-8

PEG20k-NH-β-Ala-Tyr-Trp-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 16

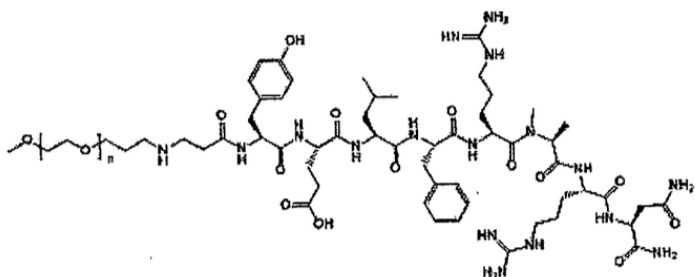


(Compuesto R)

PEG20k-NH-β-Ala0, Glu2, NMeAla6-NMU-8

PEG20k-NH-β-Ala-Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 17



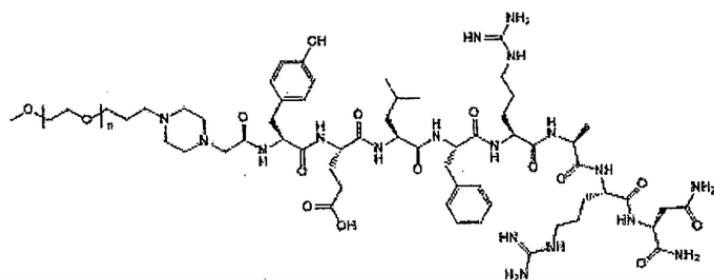
5

(Compuesto S)

PEG20k-NpipAc0, Glu2, Ala6-NMU-8

PEG20k-NpipAc-Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 18

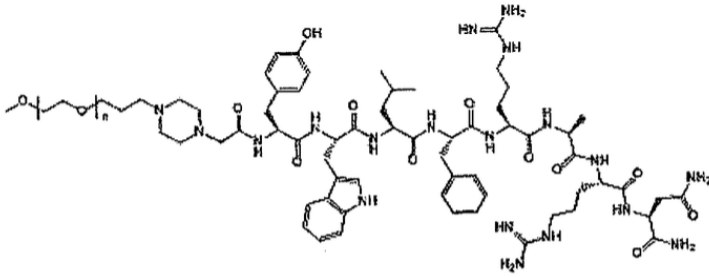


10 (Compuesto T)

PEG20k-NpipAc0, Trp2, Ala6-NMU-8

PEG20k-NpipAc-Tyr-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 19

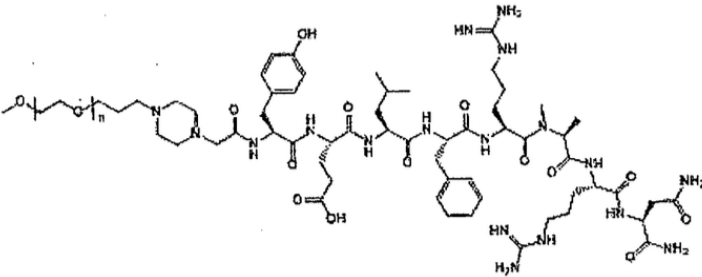


(Compuesto U)

PEG20k-NpipAc0, Glu2, NMeAla6-NMU-8

PEG20k-NpipAc-Tyr-Glu-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 17



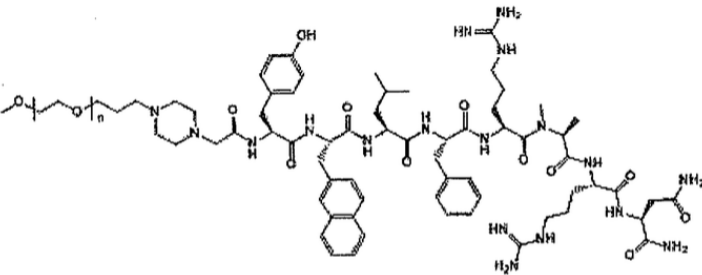
5

(Compuesto V)

PEG20k-NpipAc0, Nal(2)2, NMeAla6-NMU-8

PEG20k-NpipAc-Tyr-Nal(2)-Leu-Phe-Arg-NMeAla-Arg-Asn-NH₂

SEQ ID n.º 20



10 Las abreviaturas utilizadas en la presente memoria indican lo siguiente:

Abreviatura: Nombre

Ac: acetilo

Abu: ácido 2-aminobutanoico

AcOEt: acetato de etilo

15 AcOH: ácido acético

Aib: ácido α-aminoisobutanoico

Arg(Me): N^ω-metilarginina

Arg(Pbf): N^ω-2,2,4,6,7-pentametilhidrobenzofurasulfonil arginina

- β -Ala: β -alanina
 Boc: *tert*-butoxicarbonilo
 Bu^t: *tert*-butilo
 Bzl: bencilo
 5 Cha: β -ciclohexilalanina
 Dbu: ácido 2,4-diaminobutanoico
 DCM: diclorometano
 DEA: dietilamina
 DIEA: *N,N*-diisopropiletilamina
 10 DIPCDI: 1,3-diisopropilcarbodiimida
 DMAP: 4-dimetilaminopiridina
 DMF: *N,N*-dimetilformamida
 EDT: 1,2-etanoditiol
 Fmoc: 9-fluorenilmetoxicarbonilo
 15 HOAt: 1-hidroxi-7-aza-benzotriazol
 HOBt: 1-hidroxibenzotriazol
 HOObt: 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina
 HONB: *N*-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxiimida
 Hse: homoserina
 20 Hyp: *trans*-4-hidroxiprolinina
 Leu(Me): γ -metil-leucina
 MBHA: *p*-metilbenzidrilamina
 MeOH: metanol
 α MePhe: C ^{α} -metilfenilalanina
 25 Nal(1): 1-naftilalanina
 Nal(2): 2-naftilalanina
 Nle: norleucina
 NMeAla: N ^{α} -metilalanina
 NMeArg: N ^{α} -metilarginina
 30 NMeAsn: N ^{α} -metilasparagina
 NMeLeu: N ^{α} -metil-leucina
 NMePhe: N ^{α} -metilfenilalanina
 NMeSer: N ^{α} -metilserina
 NMeTyr: N ^{α} -metiltirosina
 35 NpipAc: 2-(piperazin-1-il)acetilo
 OBU^t: *tert*-butoxi
 Orn: ornitina

Pbf; 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofurán-5-sulfonilo

Phe(4F): 4-fluorofenilalanina

PhOH: fenol

PhSMe: tioanisol

5 Pya(4): 4-piridilalanina

PyAOP: hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidino)fosfonio

PyBOP: hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidino)fosfonio

PyBrop: hexafluorofosfato de bromo-tris(pirrolidino)fosfonio

MeGly: *N*-metilglicina

10 TIS: triisopropilsilano

Trt: tritilo

TFA: ácido trifluoroacético

TFE: trifluoroetanol

Tyr(PO₃H₂): O-fosfotirosina

15 Z: benciloxicarbonilo

Ejemplo de referencia 1

(Procedimiento sintético a): producción de β-Ala₀, Gln₅-NMU-8 (compuesto 1)

Se utilizaron 425 mg de resina de Fmoc-NH-SAL (Watanabe Chemical Industries, Ltd., 0,59 mmol/g) como material de partida y los aminoácidos con Fmoc se condensaron secuencialmente de acuerdo con una estrategia general de Fmoc (HBTU/HOBt) en un sintetizador de péptidos modelo 433A (producido por Applied Biosystems). Con ello se obtuvieron 881 mg de la resina β-Ala-Tyr(Bu^t)-Phe-Leu-Phe-Gln(Trt)-Pro-Arg(Pbf)-Asn(Trt)-NH-SAL. A continuación, se añadieron 7,94 ml de TFA/TIS/H₂O (95:2,5:2,5) a la resina peptídica obtenida, se trató a temperatura ambiente durante 2 horas y se precipitó con éter dietílico, con conversión del péptido bruto en un polvo blanco. El péptido bruto obtenido se purificó por HPLC preparativa con una columna ODS (Shimadzu LC-8A System, YMC-Pack ODS-A, 30 X 250 mm). La elución del gradiente de densidad lineal (80 minutos) se realizó a una velocidad de flujo de 20 ml/min con la solución A (TFA-agua al 0,1%)/solución B (acetonitrilo que contiene TFA al 0,1%): 85,3/14,7 a 65,3/34,7. Las fracciones de elución que contienen un producto deseado se recogieron, se concentraron y se liofilizaron para producir 107 mg de un polvo blanco.

Espectro de masas (M+H)⁺ 1154,6 (Calc.: 1154,6)

30 Tiempo de elución por HPLC: 13,8 minutos

Condiciones de elución

Columna: Wakosil-II 5C18 HG (4,6 x 100 mm)

Eluyente: solución A: TFA-agua al 0,1%; solución B: acetonitrilo que contiene TFA al 0,1%, elución con gradiente de densidad lineal (25 minutos) realizado con solución A/solución B: 100/0 a 50/50

35 Velocidad de flujo: 1,0 ml/min.

Ejemplo de referencia 2

(Procedimiento sintético b): producción de β-Ala₀, Arg₁-NMU-8 (compuesto 7)

Se utilizaron 391 mg de la resina de amida Sieber (Nova, 0,64 mmol/g) como material de partida y los aminoácidos con Fmoc se condensaron secuencialmente de acuerdo con una estrategia general de Fmoc (DCC/HOBt) en un sintetizador de péptidos modelo 433A (producido por Applied Biosystems). Con ello se obtuvieron 763 mg de la resina de amida Phe-Leu-Phe-Arg(Pbf)-Pro-Arg(Pbf)-Asn(Trt)-NH-Sieber. A continuación se lavaron con DMF 61,1 mg (0,02 mmol) de la resina obtenida, se hincharon en DMF y después se trataron durante 120 minutos con 51,9 mg (0,08 mmol) de Fmoc-Arg (Pbf), 1,16 ml (0,08 mmol) de una solución de HOAt a 0,5 M/DMF y 13,9 μl (0,08 mmol) de DIPCDI, con lo que se introdujo el resto de Arg(Pbf). Después de completar la reacción, se lavó la resina y entonces se trató con piperidina al 20%/DMF para retirar el grupo Fmoc del extremo amino. De una manera similar a la

anterior, se introdujo Boc- β -Ala. A continuación, se le añadieron 0,6 ml de TFA:tioanisol:m-cresol:H₂O:EDT:TIS (80:5:5:5:2,5:2,5) a la resina del péptido obtenido, se trató a temperatura ambiente durante 90 minutos y se precipitó con éter dietílico, convirtiendo el péptido bruto en un polvo blanco. El péptido bruto obtenido se purificó mediante HPLC preparativa con una columna ODS (Shimadzu LC-8A System, Daisopak-SP100-5-ODS-P, 20 x 250 mm). La elución con gradiente de densidad lineal (120 minutos) se realizó a una velocidad de flujo de 15 ml/min con la solución A (TFA-agua al 0,1%)/solución B (acetonitrilo que contiene TFA al 0,1%): 88/12 a 68/32. Las fracciones de elución que contienen un producto deseado se recogieron, se concentraron y se liofilizaron para producir 11,2 mg de un polvo blanco.

Espectrometría de masas (M+H)⁺ 1175,5 (Calculada, 1175,7)

10 Tiempo de elución por HPLC: 10,6 minutos

Condiciones de elución

Columna: Wakosil-II 5C18 HG (4,6 x 100 mm)

Eluyente; solución A: TFA-agua al 0,1%; solución B: acetonitrilo que contiene TFA al 0,1%, elución con gradiente de densidad lineal (25 minutos) realizado con solución A/solución B: 100/0 a 50/50

15 Velocidad de flujo: 1,0 ml/min.

Ejemplo de referencia 3

(Procedimiento sintético c): producción de 2-(piperazina-1-il)acetil-Arg3-NMU8 (compuesto 10)

Se disolvieron 9 μ mol (10,6 mg) de Arg3-NMUS (compuesto 9) en 1000 μ l de dimetilformamida. A esta solución se le añadió una solución obtenida por la adición de 13,5 μ mol de cianofosfato de dietilo y 36 μ mol de trietilamina a una solución preparada previamente mediante la disolución de una cantidad equivalente a 18 μ mol de ácido 2-(4-*tert*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)acético (Fluorochem Ltd.) en 500 μ l de dimetilformamida para realizar una reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de que la solución de reacción se evaporase, el producto resultante se disolvió en 100 μ l de agua destilada. Entonces, se añadieron a esto 1,9 ml de ácido trifluoroacético para realizar una reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos, con lo que se retiró el grupo Boc. La solución de reacción se diluyó 15 veces con éter dietílico y se mezcló exhaustivamente. Después se centrifugó la mezcla durante 15 minutos a 3000 rpm y 4 °C. El sobrenadante se descartó por decantación y a los sedimentos se le añadieron de nuevo 15 ml de éter dietílico, y se mezcló exhaustivamente. Posteriormente, se repitió el mismo procedimiento. Los sedimentos obtenidos se secaron a temperatura ambiente y se disolvieron en 6 ml de ácido acético a 0,1 M. La solución resultante se inyectó a una velocidad de flujo de 30,0 ml/min en una columna CAPCELL PAK CN (UG120, 30 x 250 mm, Shiseido Co., Ltd) equilibrada con solución A y solución B (ácido trifluoroacético al 0,1%/acetonitrilo al 80%) a una proporción de 100%/0%. Después de que la concentración se elevase rápidamente a solución A/solución B: 85%/15%, la concentración se aumentó más de forma lineal a solución A/solución B: 45%/55% durante un periodo de 40 minutos. Con esto se eluyó la 2-(piperazin-1-il)-acetil-Arg³-NMU8. Entonces se fraccionaron los picos del producto deseado y se liofilizó el producto.

35 Ejemplo de referencia 4

Los compuestos 2 a 6, los compuestos 8 y 9 y los compuestos 11 a 22 se sintetizaron de una manera similar a como se describe en los procedimientos de los ejemplos de referencia 1 a 3.

La tabla 1 (tablas 1-1 y 1-2) que viene a continuación indica cada uno de los procedimientos sintéticos.

Ejemplo 1

40 (Procedimiento sintético d): preparación del derivado de NMU conjugado a PEG mediante el uso de PEG-aldehído (1)

Se disolvieron en 1000 μ l de dimetilformamida 2,0 μ mol de cada uno de los derivados de NMU-8 (β -Ala0,Gln5-NMU-8; β -Ala0,Gln3-NMU-8; β -Ala0,Arg3-NMU-8; β -Ala0,Val3-NMU-8; β -Ala0,Cha3-NMU-8; β -Ala0,Tyr2-NMU-8; β -Ala0,Arg1-NMU-8; y β -Ala0,Pro1-NMU-8) y 4,0 μ mol (aproximadamente 120 mg) del PEG con grupo aldehído (SUBRIGHT ME-300AL, Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), y se le añadió una cantidad equivalente a 40 μ mol de cianotrihidroborato de sodio para realizar una reacción a temperatura ambiente durante 2 horas.

Se añadió ácido acético a la solución de la reacción para dar una concentración final de 0,1 M. A continuación, la solución resultante se diluyó con 40 ml de ácido acético a 0,1 M y se cargó en una columna de intercambio de iones SP-Sephadex C50 (capacidad: 10 ml). Tras enjuagar la columna con ácido acético a 0,1 M y luego con formiato de amonio a 10 mM/ácido acético a 0,1 M, se eluyó de la columna con formiato de amonio a 2 M/acetonitrilo al 20% y, a continuación, con formiato de amonio a 3,2 M/acetonitrilo al 20% un derivado de NMU-8 conjugado a PEG.

El eluido obtenido se inyectó a una velocidad de flujo de 30,0 ml/min en una columna CAPCELL PAK CN (UG120, 30 x 250 mm, Shiseido Co., Ltd.) equilibrada con solución A y solución B a una proporción de 100%/0%. Después de

elevar la concentración rápidamente a solución A/solución B: 55%/45%, la concentración se aumentó linealmente más hasta la solución A/solución B: 15%/85% durante un periodo de 40 minutos. Con esto se eluyó un derivado de NMU-8 conjugado a PEG. Se fraccionaron los picos de los derivados de NMU-8 conjugados a PEG [PEG30k-NH-β-Ala0,Gln5-NMU-8 (compuesto A), PEG30K-NH-β-Ala0,Gln3-NMU-8 (compuesto B), PEG30k-NH-β-Ala0,Arg3-NMU-8 (compuesto C), PEG30k-NH-β-Ala0,Val3-NMU-8 (compuesto D), PEG30k-NH-β-Ala0,Tyr2-NMU-8 (compuesto E), PEG30k-NH-β-Ala0,Cha3-NMU-8 (compuesto F), PEG30k-NH-β-Ala0,Arg1-NMU-8 (compuesto G) y PEG30k-NH-β-Ala0,Pro1-NMU-8 (compuesto H)] y se liofilizaron los productos resultantes.

Cada uno de los NMU-8 conjugados a PEG que se obtuvieron por liofilización se disolvió en agua destilada y la concentración de péptidos se determinó mediante un análisis de aminoácidos.

10 Ejemplo 2

(Procedimiento sintético e): preparación del derivado de NMU conjugado a PEG mediante el uso de PEG-aldehído (2)

Se disolvieron en 1000 µl de dimetilformamida 2,0 µmol de 2-(piperazin-1-il)acetil-Arg3-NMU8 (compuesto 10) y 4,0 µmol (aproximadamente 120 u 80 mg) del PEG con grupo aldehído (SUNBRIGHT ME-200 AL o SUNBRIGHT ME-300 AL, Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), y una cantidad equivalente a 40 µmol de cianotrihidroborato de sodio se añadió a ella para realizar una reacción a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió ácido acético a la solución de la reacción para dar una concentración final de 0,1 M. Entonces, la solución resultante se diluyó con 40 ml de ácido acético a 0,1 M y se cargó en una columna de intercambio de iones SP-Sephadex C50 (capacidad: 10 ml). Tras enjuagar la columna con ácido acético a 0,1 M y después con formiato de amonio a 10 mM/ácido acético a 0,1 M, se eluyó de la columna un derivado de NMU-8 conjugado a PEG con formiato de amonio a 2 M/acetronitrilo al 20% y luego con formiato de amonio a 3,2 M/acetronitrilo al 20%.

El eluido que se obtiene se inyectó a una velocidad de flujo de 30,0 ml/min en una columna CAPCELL PAK CN (UG120, 30 x 250 mm, Shiseido Co., Ltd.) equilibrada con solución A y solución B a una proporción de 100%/0%. Después de que la concentración aumentase rápidamente a solución A/solución B a una proporción de 55%/45%, la concentración se aumentó linealmente más a solución A/solución B a una proporción de 15%/85% durante un periodo de 40 minutos. Con esto se eluyó un derivado de NMU-8 conjugado a PEG. Se fraccionaron los picos de los derivados de NMU-8 conjugados a PEG [PEG20k-NpipAc-Arg3-NMU-8 (compuesto I) y PEG30k-NpipAc-Arg3-NMU-8 (compuesto J)] y se liofilizaron los productos resultantes.

Ejemplo 3

(Procedimiento sintético f): preparación del derivado de NMU-8 conjugado a PEG con el uso de PEG-aldehído (3)

Se disolvieron en 1000 µl de dimetilformamida 4,0 µmol de cada uno de los derivados de NMU-8 (β-Ala0,Asp8-NMU-8; β-Ala0,NMeArg5-NMU-8; β-Ala0,Arg(Me)7-NMU-8; β-Ala0,NMeLeu3,NMeArg7-NMU-8; β-Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMeArg5-NMU-8; β-Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8; y β-Ala0,Glu2,NMeAla6-NMU-8) y 6,0 µmol (aproximadamente 180 mg o 120 mg) de PEG con grupo aldehído (SUNBRIGHT ME-300AL o ME-200AL, Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), y se le añadió una cantidad equivalente a 80 µmol de cianotrihidroborato de sodio para llevar a cabo una reacción a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió ácido acético a la solución de reacción a una concentración final de 0,1 M. Entonces, la solución resultante se diluyó con 40 ml de ácido acético a 0,1 M y se cargó en una columna de intercambio de iones SP-Sephadex C50 (capacidad: 10 ml). Después de enjuagar la columna con ácido acético a 0,1 M, y a continuación con formiato de amonio a 10 mM/ácido acético a 0,1 M, se eluyó un derivado de NMU-8 conjugado a PEG de la columna con formiato de amonio a 2 M/acetronitrilo al 20%, y después con formiato de amonio a 3,2 M/acetronitrilo al 20%.

El eluido que se obtuvo se inyectó a una velocidad de flujo de 30,0 ml/min en una columna CAPCELL PAK CN (UG120, 30 x 250 mm, Shiseido Co., Ltd.) equilibrada con solución A y solución B a una proporción de 100%/0%. Después de aumentar rápidamente la concentración a solución A/solución B a una proporción de 60%/40%, la concentración se aumentó linealmente más a solución A/solución B a una proporción de 20%/80% durante un periodo de 40 minutos. Con ello se eluyó un derivado de NMU-8 conjugado a PEG. Se fraccionaron los picos de los derivados de NMU-8 conjugados a PEG [PEG30k-NH-β-Ala0,Asp8-NMU-8 (compuesto L), PEG30k-NH-β-Ala0,NMeArg5-NMU-8 (compuesto M), PEG30k-NH-β-Ala0,Arg(Me)7-NMU-8 (compuesto N), PEG20k-NH-β-Ala0,NMeLeu3,NMeArg7-NMU-8 (compuesto O), PEG20k-NH-β-Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMeArg5-NMU-8 (compuesto P), PEG20k-NH-β-Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8 (compuesto Q) y PEG20k-NH-β-Ala0,Glu2,NMeAla6-NMU-8 (compuesto R)] y luego se liofilizaron los productos resultantes.

Ejemplo 4

(Procedimiento sintético g): preparación de derivados de NMU conjugados a PEG con el uso de PEG-aldehído (4)

Se disolvieron en 1000 µl de dimetilformamida 4,0 µmol de cada uno de 2-(piperazin-1-il)acetil-[Phe1,Trp2,Ala6]-NMU-8, 2-(piperazin-1-il)acetil-[Glu2,Ala6]-NMU8, 2-(piperazin-1-il)acetil-[Trp2,Ala6]-NMU8, 2-(piperazin-1-il)acetil-[Glu2,NMeAla6]-NMU8 y 2-(piperazin-1-il)acetil-[Nal(2)2,NMeAla6]-NMU8 y 6,0 µmol (aproximadamente 120 mg) del PEG con grupo aldehído (SUNBRIGHT ME-200AL, Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), y una cantidad equivalente a 80

5 μmol de cianotrihidroborato de sodio se añadió a esto para realizar una reacción a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió ácido acético a la solución de la reacción a una concentración final de 0,1 M. A continuación, la solución resultante se diluyó con 40 ml de ácido acético a 0,1 M y se cargó en una columna de intercambio de iones SP-Sephadex C50 (capacidad: 10 ml). Después de enjuagar la columna con ácido acético a 0,1 M y a continuación con formiato de amonio a 10 mM/ácido acético a 0,1 M, se eluyó de la columna un derivado de NMU-8 conjugado a PEG con formiato de amonio a 2 M/acetronitrilo al 20% y luego con formiato de amonio a 3,2 M/acetronitrilo al 20%.

10 El eluido que se obtuvo se inyectó a una velocidad de flujo de 30,0 ml/min en una columna CAPCELL PAK CN (UG120, 30 x 250 mm, Shiseido Co., Ltd) equilibrada con solución A y solución B a una proporción de 100%/0%. Después de elevar la concentración rápidamente a solución A/solución B a una proporción de 60%/40%, la concentración se elevó linealmente más a solución A/solución B a una proporción de 20%/80% durante un periodo de 40 minutos. Con esto se eluyó un derivado de NMU-8 conjugado a PEG. Se fraccionaron los picos de los derivados de NMU-8 conjugados a PEG [PEG20k-NpipAc-Phe1,Trp2,Ala6-NMU-8 (compuesto K), PEG20k-NpipAc-Glu2,Ala6-NMU8 (compuesto S), PEG20k-NpipAc-Trp2,Ala6-NMU8 (compuesto T), PEG20k-NpipAc-Glu2,NMeAla6-NMU8 (compuesto U) y PEG20k-NpipAc-Nal(2)2,NMeAla6-NMU8 (compuesto V)] y se liofilizaron los productos resultantes.

La tabla 1 que viene a continuación muestra la estructura, propiedades fisicoquímicas, etc., de cada uno de los compuestos sintetizados más arriba.

20 La columna de la tabla titulada «Procedimiento sintético» muestra que los compuestos descritos en los ejemplos de referencia 1 a 3 se sintetizaron mediante los procedimientos sintéticos a, b o c, y que los compuestos que no se describen en los ejemplos de referencia 1 a 3 se sintetizaron de una manera similar al procedimiento sintético a, b o c.

La columna de la tabla titulada «Condición del análisis» muestra las condiciones de análisis por HPLC h, i, j, k, l, m o n siguientes:

25 h: Wakosil-II 5C18 HG 4,6 x 100 mm; gradiente: 0-50% B (A: DW/0,1% TFA, B: 100% AcCN/0,1% TFA), 0-25 min, 1 ml/min.

i: CAPCELL PAK UG120, CN 30 x 250 mm; gradiente: 20-60% B (A: DW/0,1% TFA, B: 80% AcCN/0,1% TFA), 3-43 min., 30 ml/min.

j: Merck Chromolith Performance RP-18e 4,6 x 100 mm; gradiente: 5-65% B (A: DW/0,1% TFA, B: 100% AcCN/0,1% TFA), 0-10 min., 3 ml/min.

30 k: CAPCELL PAK UG120, C1 30 x 250 mm; gradiente: 40-80% B (A: DW/0,1% TFA, B: 80% AcCN/0,1% TFA), 6-46 min, 30 ml/min.

l: CAPCELL PAK UG120, CN 30 x 250 mm; gradiente: 40-80% B (A: DW/0,1% TFA, B: 80% AcCN/0,1% TFA), 3-43 min., 30 ml/min.

35 m: CAPCELL PAK UG120, CN 30 x 250 mm; gradiente: 45-85% B (A: DW/0,1% TFA, B: 80% AcCN/0,1% TFA), 3-43 min., 30 ml/min.

n: CAPCELL PAK UG120, CN 50 x 250 mm y gradiente 40-80% B (A: DW/0,1% TFA, B: 80% AcCN/0,1% TFA), 10-50 min, 60 ml/min.

Tabla 1-1

Compuesto n.º	Estructura	M+H ⁺ (obs.)	M+H ⁺ (cal.)	HPLC (min)	Procedimiento sintético	Condición del análisis
1	β -Ala0,Gln5-NMU-8	1154,6	1154,6	13,8	a	h
2	β -Ala0,Gln3-NMU-8	1197,5	1197,6	11,7	a	h
3	β -Ala0,Arg3-NMU-8	1225,4	1225,7	11,0	a	h
4	β -Ala0,Val3-NMU-8	1168,4	1168,6	12,4	a	h
5	β -Ala0,Try2-NMU-8	1198,5	1198,6	12,0	a	h
6	β -Ala0,Cha3-NMU-8	1222,4	1222,7	15,0	a	h
7	β -Ala0,Arg1-NMU-8	1175,5	1175,7	10,6	b	h
8	β -Ala0,Pro1-NMU-8	1116,6	1116,6	12,2	b	h
9	Arg3-NMU-8	1154,5	1154,6	10,3	b	h

Compuesto n.º	Estructura	M+H ⁺ (obs.)	M+H ⁺ (cal.)	HPLC (min)	Procedimiento sintético	Condición del análisis
10	NpipAc-Arg3-NMU-8	1281,1	1280,7	10,8	c	i
12	β-Ala0,Asp8-NMU-8	1183,5	1183,6	13,2	a	h
13	β-Ala0,NMeArg5-NMU-8	1196,7	1196,7	13,4	a	h
14	β-Ala0,Arg(Me)7-NMU-8	1196,6	1196,7	13,0	a	h
15	β-Ala0,NMeLeu3, NmeArg7-NMU-8	1210,6	1210,7	13,5	a	h

Tabla 1-2

16	β-Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMEArg5-NMU-8	1224,3	1224,7	14,9	a	h
17	β-Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8	1209,7	1209,7	4,7	a	j
18	β-Ala0,Glu2,NMeAla6-NMU-8	1152,6	1152,6	3,9	a	j
19	NpipAc0,Glu2,Ala6-NMU-8	1193,6	1193,7	3,8	a	j
20	NpipAc0,Trp2,Ala6-NMU-8	1250,6	1250,7	4,7	a	j
21	NpipAc0,Glu2,NMeAla6-NMU-8	1207,6	1207,7	3,9	a	j
22	NpipAc0,Nal(2)2,NmeAla6-NMU-8	1275,7	1275,7	5,2	a	j
A	PEG-NH-β-Ala0,Gln5-NMU8			23,6	d	k
B	PEG-NH-β-Ala0,Gln3-NMU-8			23,0	d	k
C	PEG-NH-β-Ala0,Arg3-NMU-8			15,4	d	l
D	PEG-NH-β-Ala0,Val3-NMU-8			15,6	d	l
E	PEG-NH-β-Ala0,Tyr2-NMU-8			15,5	d	l
F	PEG-NH-β-Ala0,Cha3-NMU-8			23,8	d	k
G	PEG-NH-β-Ala0,Arg1-NMU-8			17,5	d	l
H	PEG-NH-β-Ala0,Pro1-NMU-8			17,6	d	l
I	PEG20k-NpipAc-Arg3-NMU-8			12,0	e	m
J	PEG30k-NpipAc-Arg3-NMU-8			13,2	e	m
K	PEG20k-NpipAc0,Phe1,Trp2,Ala6-NMU-8			23,7	g	n
L	PEG30k-NH-β-Ala0,Asp8-NMU-8			12,6	f	m
M	PEG30k-NH-β-Ala0,NmeArg5-NMU-8			12,9	f	m
N	PEG30k-NH-β-Ala0,Arg(Me)7-NMU-8			12,7	f	m
O	PEG20k-NH-β-Ala0,NMeLeu3,NMeArg7-NMU-8			18,7	f	l
P	PEG20k-NH-β-Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMeArg 5-NMU-8			19,2	f	l
Q	PEG20k-NH-β-Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8			18,6	f	l
R	PEG20k-NH-β-Ala0,Glu2,NMeAla6-NMU-8			19,0	f	l
S	PEG20k-NpipAc0,Glu2,Ala6-NMU-8			18,8	g	l
T	PEG20k-NpipAc0,Trp2,Ala6-NMU-8			19,3	g	l
U	PEG20k-NpipAc0,Glu2,NMeAla6-NMU-8			18,9	g	l
V	PEG20k-NpipAc0,Nal(2)2, NMeAla6-NMU-8			19,3	g	l

Ejemplo de comprobación 1

Prueba de fijación al receptor del derivado de NMU-8 y conjugado a PEG

Las células CHO que expresan el FM3 humano (dhfr-) y las células CHO que el expresan el TGR1 humano (dhfr-) se cultivaron en medio MEM α con FBS dializado al 10% (Invitrogen) en condiciones de dióxido de carbono al 5% a 37 °C. Las células adheridas se desprendieron con 10 ml de D-PBS que contiene EDTA a 0,1 mM (Invitrogen) y se centrifugó durante 10 minutos a 1000 rpm a 4 °C, con lo que se recogen las células. A los sedimentos celulares obtenidos se les añadieron 15 ml del tampón de homogeneización (NaHCO₃ a 10 mM (pH 7,4), EDTA a 5 mM, inhibidor de la proteasa = PMSF a 0,5 mM, pepstatina A a 10 μ g/ml, leupeptina a 20 μ g/ml y E-64 a 4 μ g/ml), se rompió la membrana celular con un homogeneizador Polytron (Kinematica GmbH), se llevó a cabo la centrifugación durante 10 minutos a 1000 g a 4 °C y se recogió el sobrenadante. Este proceso se repitió otras dos veces y la ultracentrifugación se llevó a cabo durante 60 minutos a 30.000 rpm a 4 °C. Después de eso, se añadieron a los sedimentos 8 ml del tampón de homogeneización y se suspendieron homogéneamente para preparar una fracción membranaria. La concentración de proteínas de la fracción membranaria de células CHO que expresan el FM3 era de 1,2 mg/ml, y la concentración de proteínas de la fracción membranaria de células CHO que expresan el TGR1 era de 1,1 mg/ml.

La afinidad de los derivados de NMU-8 y conjugados a PEG mostrada en la tabla 2 (tabla 2-1 y tabla 2-2) respecto a cada receptor se evaluó basándose en la inhibición de la fijación del ligando marcado ¹²⁵I-NMU8 a la fracción membranaria con FM3 o a la fracción membranaria con TGR1. Específicamente, cada uno de los derivados de NMU y conjugados a PEG se disolvió en DMSO para preparar 2 μ l de cada serie de dilución de los derivados de NMU y conjugados a PEG. A continuación, se le añadieron 100 μ l de la solución de las fracciones membranarias diluidas con un tampón de reacción (HEPES a 50 mM, EDTA a 1 mM, inhibidor de proteasas (PMSF a 0,5 mM), pepstatina A a 10 μ g/ml, leupeptina a 20 μ g/ml y E-64 a 4 μ g/ml, pH 6,8, SAB al 0,1%), seguido de otra adición de 100 μ l del ligando marcado (concentración final: 135 pM) diluido del mismo modo con el tampón de reacción. El producto resultante se mezcló exhaustivamente y a continuación se llevó a cabo una reacción a 25 °C durante 70 minutos. De acuerdo con el procedimiento descrito más arriba, la cantidad de fijación del ligando marcado que queda en el filtro se midió utilizando un TopCount® (PerkinElmer) mediante un procedimiento con líquido de centelleo y los valores de CI₅₀ se calcularon con Graph Pad Prism [figura 1 (fijación al receptor FM3), figura 2 (fijación al receptor TGR1) y tabla 2]. En las figuras 1 y 2, el eje horizontal indica los valores logarítmicos de la concentración de cada derivado y el eje vertical indica el porcentaje de inhibición de fijación de cada derivado, normalizado con la radioactividad residual del 0% al 100%, calculado basándose en la fijación de NMU-8. La tabla 2 muestra las proporciones de los valores de CI₅₀ cuando la afinidad de NMU-8 era 1.

Tabla 2-1

Compuesto n.º	Estructura	Fijación al receptor FM3 Proporción de CI ₅₀	Fijación al receptor TGR1 Proporción de CI ₅₀
1	β -Ala0,Gln5-NMU-8	15	3,4
2	β -Ala0,Gln3-NMU-8	0,31	3,9
3	β -Ala0,Arg3-NMU-8	0,07	0,38
4	β -Ala0,Val3-NMU-8	0,43	0,37
5	β -Ala0,Tyr2-NMU-8	0,44	0,17
6	β -Ala0,Cha3-NMU-8	0,55	9,9
7	β -Ala0,Arg1-NMU-8	0,42	3,7
8	β -Ala0,Pro1-NMU-8	0,59	3,8
9	Arg3-NMU-8	0,62	1,9
10	NpipAc-Arg3-NMU-8	0,27	0,66
11	NpipAc0,Phe1,Trp2,Ala6-NMU-8	280	0,19
12	β -Ala0,Asp8-NMU-8	2,4	2,0
13	β -Ala0,NMeArg5-NMU-8	0,46	1,1
14	β -Ala0,Arg(Me)7-NMU-8	6,3	3,6
15	β -Ala0,NMeLeu3,NMeArg7-NMU-8	8,6	19
16	β -Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMEArg5-NMU-8	8,5	27
17	β -Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8	92	1,9
18	β -Ala0,Glu2,NMeAla6-NMU-8	26000	31

Tabla 2-1

19	NpipAc0,Glu2,Ala6-NMU-8	24000	25
20	NpipAc0,Trp2,Ala6-NMU-8	900	1,9
21	NpipAc0,Glu2,NMeAla6-NMU-8	6500	5,5
22	NpipAc0,Nal(2)2,NMeAla6-NMU-8	99	1,7
A	PEG-NH-β-Ala0,Gln5-NMU-8	160	9,6
B	PEG-NH-β-Ala0,Gln3-NMU-8	1,8	7,3
C	PEG-NH-β-Ala0,Arg3-NMU-8	1,7	2,6
D	PEG-NH-β-Ala0,Val3-NMU-8	5,3	2,2
E	PEG-NH-β-Ala0,Tyr2-NMU-8	8,1	1,7
F	PEG-NH-β-Ala0,Cha3-NMU-8	1,3	11
G	PEG-NH-β-Ala0,Arg1-NMU-8	1,5	8,5
H	PEG-NH-β-Ala0,Pro1-NMU-8	9,4	21
I	PEG20k-NpipAc-Arg3-NMU-8	1,6	2,1
J	PEG30K-NpiAc-Arg3-NMU-8	2,2	2,6
K	PEG20k-NpipAc,Phe1,Trp2,Ala6-NMU-8	11000	34
L	PEG30K-NH-β-Ala0,Asp8-NMU-8	150	34
M	PEG30K-NH-β-Ala0,NMeArg5-NMU-8	9,0	29
N	PEG30k-NH-β-Ala0,Arg(Me)7-NMU-8	290	63
O	PEG20k-NH-β-Ala0,NMeLeu3,NMeArg7-NMU-8	75	170
P	PEG20k-NH-β-Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMeArg5-NMU-8	83	240
Q	PEG20k-NH-β-Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8	1600	47
R	PEG20k-NH-β-Ala0,Glu2-NMeAla6-NMU-8	>7300	540
S	PEG20k-NpipAc0,Glu2,Ala6-NMU-8	>10000	750
T	PEG20k-NpipAc0,Trp2,Ala6-NMU-8	>10000	55
U	PEG20k-NpipAc0,Glu2,NMeAla6-NMU-8	>10000	360
V	PEG20k-NpipAc0,Nal(2)2,NMeAla6-NMU-8	10000	27

Ejemplo de comprobación 2

5 Actividad anorexígena del derivado de NMU-8 conjugado a PEG en los ratones

Los ratones macho C57BL/6J de siete semanas comprados a Charles River Laboratories Japan Inc, se alojaron por grupos (cuatro animales por jaula) durante 5 a 10 días después de introducirlos un entorno de cría en donde estaban ajustados la temperatura, la humedad y el periodo de luz (25 °C, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, la luz se encendía a las 8:00). Después de manejarlos durante 5 a 8 días, los ratones se alojaron individualmente en jaulas con suelos de malla y se habituaron a la administración subcutánea durante 3 días antes de la administración del péptido (conjugado). Los ratones habituados se mantuvieron en ayunas durante 16 horas desde las 18:00 del día anterior a la administración del péptido (conjugado); sin embargo, los ratones tenían acceso libre a beber agua. Posteriormente, 100 µl de cada una de las soluciones obtenidas al disolver, en solución salina fisiológica, cada uno de los derivados de NMU-8 conjugados a PEG, a saber, PEG30k-NH-β-Ala0,Gln5-NMU-8 (compuesto A), PEG30k-NH-β-Ala0,Gln3-NMU-8 (compuesto B), PEG30K-NH-β-Ala0,Arg3-NMU-8 (compuesto C), PEG30k-NH-β-Ala0,Val3-NMU-8 (compuesto D), PEG30k-NH-β-Ala0,Tyr2-NMU-8 (compuesto E), PEG30k-NH-β-Ala0,Cha3-Nmu-8 (compuesto F), PEG30k-NH-β-Ala0,Arg1-NMU-8 (compuesto G), PEG30k-NH-β-Ala0,Pro1-NMU-8 (compuesto H), PEG20K-NpipAc-Arg3-NMU8 (compuesto I) y PEG30k-NpipAc-Arg3-NMU8 (compuesto J) se administró por vía subcutánea a los ratones a las 10:00 h el día de la administración de tal modo que la dosis de cada una de las soluciones era de 100 nmol/kg. Inmediatamente después de la administración de la solución del péptido (conjugado),

los ratones se alimentaron a voluntad con pienso MF (Oriental Yeast Co., Ltd.) que se había pesado y la cantidad residual de pienso se pesó al cabo de 3, 6 y 24 horas. La ingestión de alimento a las 3, 6 y 24 horas se calculó por sustracción de la cantidad residual de pienso pesado tras 3, 6 y 24 horas de la cantidad del alimento dado originalmente. Las figuras 3 a 6 muestran los resultados. La figura 6 muestra los resultados obtenidos cuando 100 µl de cada una de las soluciones de los compuestos C y J se administraron por vía subcutánea a los ratones de tal forma que la dosis de cada una de las soluciones era de 30 nmol/kg.

En la figura 3, las columnas representan, desde la izquierda, una solución salina fisiológica, el compuesto A y el compuesto B. La ingestión de pienso de los grupos de administración de la forma PEGilada de la NMU y la ingestión de pienso del grupo de administración de la solución salina fisiológica se analizaron mediante una prueba con 2 muestras. El número de asteriscos representa los siguientes niveles de significación:

Nivel de significación menor de 0,01 (P < 0,01): **

Nivel de significación menor de 0,001 (P < 0,001): ***

En la figura 4, las columnas representan, desde la izquierda, una solución salina fisiológica, el compuesto C, el compuesto D y el compuesto E. La ingestión de pienso de los grupos de administración de la forma PEGilada de la NMU y la ingestión de pienso del grupo de administración de la solución salina fisiológica se analizaron mediante una prueba con 2 muestras. El número de asteriscos representa los siguientes niveles de significación :

Nivel de significación menor de 0,05 (P < 0,05): *

Nivel de significación menor de 0,01 (P < 0,01): **

Nivel de significación menor de 0,001 (P < 0,001): ***

En la figura 5, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto F, compuesto G, compuesto H, compuesto I y compuesto J. La ingestión de pienso de los grupos de la administración de la forma PEGilada de la NMU y la ingestión de pienso del grupo de solución salina fisiológica se analizaron mediante una prueba con 2 muestras. El número de asteriscos representa el nivel de significación como sigue:

Nivel de significación menor de 0,05 (P < 0,05); *

Nivel de significación menor de 0,01 (P < 0,01): **

Nivel de significación menor de 0,001 (P < 0,001): ***

En la figura 6, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto C (30 nmol/kg), compuesto C (100 nmol/kg), compuesto J (30 nmol/kg) y compuesto J (100 nmol/kg). # indica que el nivel de significación era menor de 0,025 (P < 0,025), basándose en la prueba de William realizada con respecto a las ingestiones de pienso.

Como queda claro a partir de las figuras 3 a 6, cada uno de los conjugados NMU-8-PEG suprime significativamente la ingestión de pienso de los ratones.

Ejemplo de comprobación 3

Actividad anorexígena de derivados de NMU-8 conjugados a PEG en los ratones (2)

Los ratones macho C57BL/6J de seis a siete semanas de edad comprados a Charles River Laboratories Japan Inc, se alojaron en grupos (cuatro animales por jaula) durante 9 a 12 días después de introducirlos en un entorno de cría en donde estaban ajustados la temperatura, la humedad y el tiempo de luz (25 °C, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, la luz se encendió a las 8:00). Tras ser manipulados durante 5 a 8 días, los ratones se alojaron individualmente en jaulas con el suelo de malla y se habituaron a una administración subcutánea durante 3 días antes de la administración del péptido (conjugado). Los ratones habituados se mantuvieron en ayunas durante 16 horas desde las 18:00 el día anterior a la administración del péptido (conjugado); sin embargo, los ratones tenían acceso libre a beber agua. Posteriormente se administraron 100 µl de cada una de las soluciones obtenidas al disolver en solución salina fisiológica cada uno de los derivados de NMU-8 conjugados a PEG, a saber, PEG20k-NpipAc-Phe1,Trp2,Ala6-NMU-8 (compuesto K), PEG30K-NH-β-Ala0,Asp8-NMU-8 (compuesto L) PEG30k-NH-β-Ala0,NMeArg5-NMU-8 (compuesto M), PEG30k-NH-β-Ala0,Arg(Me)7-NMU-8 (compuesto N), PEG20k-NH-β-Ala0,NMeTyr1,NMeLeu3,NMeArg5-NMU-8 (compuesto P), PEG20k-NH-β-Ala0,Trp2,NMeAla6-NMU-8 (compuesto Q), PEG20k-NH-β-Ala0,Glu2,NMeAla6-NMU-8 (Compuesto R), PEG20k-NpipAc-Glu2,Ala6-NMU-8 (compuesto S), PEG20k-NpipAc-Trp2,Ala6-NMU8 (compuesto T), PEG20k-NpipAc-Glu2,NMeAla6-NMU-8 (compuesto U) y PEG20k-NpipAc-Nal(2)2,NMeAla6-NMU8 (compuesto V) por vía subcutánea a los ratones a las 10:00 h el día de la administración de tal forma que la dosis de cada una de las soluciones fuera 100 nmol/kg. Inmediatamente después de la administración de la solución del péptido (conjugado), los ratones se alimentaron a voluntad con pienso MF (Oriental Yeast Co., Ltd.) que se habían pesado y la cantidad de pienso que quedaba se pesó al cabo de 3, 6 y 24 horas. La ingestión de alimento a las 3, 6 y 24 horas se calculó por sustracción de la cantidad residual del pienso

pesado al cabo de 3, 6 y 24 horas de la cantidad de pienso dado originalmente. Las figuras 7 a 11 muestran los resultados.

- 5 En la figura 7, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto K (10 nmol/kg), compuesto K (30 nmol/kg), compuesto K (300 nmol/kg) y compuesto K (3000 nmol/kg). # indica que el nivel de significación era de menos de 0,025 ($P < 0,025$), basándose en la prueba de William realizada respecto a las ingestiones de pienso.

Los ratones tenían a las 10 semanas de edad un peso medio de 24,5 g y su número era de cinco a seis animales.

- 10 En la figura 8, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto L (100 nmol/kg), compuesto M (30 nmol/kg), compuesto M (100 nmol/kg), compuesto N (30 nmol/kg) y compuesto N (100 nmol/kg). # indica que el nivel de significación era de menos de 0,025 ($P < 0,025$), basándose en la prueba de William realizada respecto a la ingestión de pienso. ** indica que el nivel de significación era de menos de 0,01 ($P < 0,01$), que se determinó basándose en una prueba con 2 muestras realizada con respecto a la ingestión de pienso del grupo de administración del compuesto L (100 nmol/kg) y la ingestión de pienso del grupo de solución salina fisiológica.

Los ratones tenían a las 9 semanas de edad un peso medio de 23,6 g y el número era de cinco a seis animales.

- 15 En la figura 9, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto P (10 nmol/kg), compuesto P (100 nmol/kg), compuesto P (1000 nmol/kg), compuesto Q (10 nmol/kg), compuesto Q (100 nmol/kg) y compuesto Q (1000 nmol/kg). # indica que el nivel de significación era de menos de 0,025 ($P < 0,025$), basándose en la prueba de William realizada con respecto a la ingestión de pienso.

Los ratones tenían a las 10 semanas de edad un peso medio de 24,8 g y su número era de cinco animales.

- 20 En la figura 10, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto T (10 nmol/kg), compuesto T (100 nmol/kg), compuesto T (1000 nmol/kg), compuesto V (10 nmol/kg), compuesto V (100 nmol/kg) y compuesto V (1000 nmol/kg). # indica que el nivel de significación era de menos de 0,025 ($P < 0,025$), basándose en la prueba de William realizada con respecto a la ingestión de pienso.

Los ratones tenían a las 10 semanas de edad un peso medio de 24,8 g y su número era de cuatro a cinco animales.

- 25 En la figura 11, las columnas representan, desde la izquierda, solución salina fisiológica, compuesto S (100 nmol/kg), compuesto S (1000 nmol/kg), compuesto U (10 nmol/kg), compuesto U (100 nmol/kg), compuesto U (1000 nmol/kg) y compuesto K (100 nmol/kg). # indica que el nivel de significación era de menos de 0,025 ($P < 0,025$), basándose en la prueba de William realizada con respecto a la ingestión de pienso.

Los ratones tenían a las 10 semanas de edad un peso medio de 24,6 g y su número era de cinco animales.

- 30 Como queda claro a partir de las figuras 7 a 11 que los conjugados NMU-8-PEG suprimían significativamente la ingestión de alimento en los ratones.

Aplicabilidad industrial

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar como agente anorexígeno o como agente terapéutico y profiláctico contra la obesidad.

- 35 Texto libre de la lista de secuencias

[SEQ ID n.º 2]

Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 3]

- 40 Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 4]

Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

- 45 [SEQ ID n.º 5]

Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 6]

Una variante de NMU-8.

5 La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

La alanina de la posición 3 tiene una sustitución ciclohexilo. Por lo tanto, la posición 3 es β -ciclohexilalanina.

[SEQ ID n.º 7]

Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

10 [SEQ ID n.º 8]

Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 9]

Una variante de NMU-8.

15 La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 10]

Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 11]

20 Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 12]

Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

25 [SEQ ID n.º 13]

Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

La arginina de la posición 7 tiene una sustitución metilo y la posición 7 es, por lo tanto, N^{α} -metilarginina.

[SEQ ID n.º 14]

30 Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

La leucina de la posición 3 tiene una sustitución metilo. Por lo tanto, la posición 3 es N^{α} -metil-leucina.

La arginina se la posición 7 tiene una sustitución metilo y la posición 7 es, así pues, N^{ω} -metilarginina.

[SEQ ID n.º 15]

35 Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

La tirosina de la posición 1 tiene una sustitución metilo. Por lo tanto, la posición 1 es N^{α} -metiltirosina.

La leucina de la posición 3 tiene una sustitución metilo. Por lo tanto, la posición 3 es *N*^ε-metil-leucina.

La arginina de la posición 5 tiene una sustitución metilo. Por lo tanto, la posición 5 es *N*^ε-metilarginina.

[SEQ ID n.º 16]

Una variante de NMU-8.

5 La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

La posición 6 es *N*^ε-metilalanina.

[SEQ ID n.º 17]

Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

10 La posición 6 es *N*^ε-metilalanina.

[SEQ ID n.º 18]

Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 19]

15 Una variante de NMU-8

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

[SEQ ID n.º 20]

Una variante de NMU-8.

La posición 8 (extremo carboxilo) está amidada.

20 La posición 2 es.

La posición 6 es *N*^ε-metilalanina.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Takeda Pharmaceutical Company Limited

<120> Derivado de neuromedina U

25 <130> TKDWO090317P

<150> JP 2009-94000

<151> 2009-04-08

<160> 20

<170> PatentIn version 3.5

30 <210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

35 <221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> AMIDACIÓN

<400> 1

Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn

1

5

<210> 2
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)

10 <223> AMIDACIÓN

<400> 2
Tyr Phe Leu Phe Gln Pro Arg Asn
1 5

<210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> variante NMU-8

<400> 3
Tyr Phe Gln Phe Arg Pro Arg Asn
1 5

20 <210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)

30 <223> AMIDACIÓN

<400> 4
Tyr Phe Arg Phe Arg Pro Arg Asn
1 5

<210> 5
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> variante NMU-8

<400> 5
Tyr Phe Val Phe Arg Pro Arg Asn
1 5

40 <210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 <221> MOD_RES

- <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN
- <400> 6
Tyr Tyr Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5
- 5 <210> 7
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 10 <223> variante NMU-8
- <220>
 <221> característica_misc
 <222> (3)..(3)
 <223> La alanina está sustituida con ciclohexilo.
- 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN
- <400> 7
Tyr Phe Ala Phe Arg Pro Arg Asn
 20 **1 5**
- <210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- 25 <220>
 <223> variante NMU-8
- <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
- 30 <223> AMIDACIÓN
- <400> 8
Arg Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5
- <210> 9
 <211> 8
- 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <223> variante NMU-8
- <220>
 40 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN
- <400> 9
Pro Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5
- 45 <210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> variante NMU-8

 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN

 <400> 10
Phe Trp Leu Phe Arg Ala Arg Asn
1 5

 <210> 11
 10 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> variante NMU-8

 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN

 <400> 11
Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asp
 20 **1 5**

 <210> 12
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> variante NMU-8

 <220>
 <221> característica_misc
 <222> (5)..(5)
 30 <223> Xaa es N(alfa)-metil arginina.

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN

 35 <400> 12
Tyr Phe Leu Phe Xaa Pro Arg Asn
1 5

 <210> 13
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> variante NMU-8

 <220>
 <221> MOD_RES
 45 <222> (7)..(7)
 <223> METILACIÓN

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 50 <223> AMIDACIÓN

<400> 13
Tyr Phe Leu Phe Arg Pro Arg Asn
1 5

<210> 14
 <211> 8
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 10 <221> característica_misc
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa es N(alfa)-metil leucina.

<220>
 15 <221> característica_misc
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa es N(alfa)-metil arginina.

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 20 <223> AMIDACIÓN

<400> 14
Tyr Phe Xaa Phe Arg Pro Xaa Asn
1 5

<210> 15
 <211> 8
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 30 <221> característica_misc
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa es N(alfa)-metil tirosina.

<220>
 <221> característica_misc
 35 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa es N(alfa)-metil leucina.

<220>
 <221> característica_misc
 <222> (5)..(5)
 40 <223> Xaa es N(alfa)-metil arginina.

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN

45 <400> 15
Xaa Phe Xaa Phe Xaa Pro Arg Asn
1 5

<210> 16
 <211> 8
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 <221> característica_misc
 5 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa es N(alfa)-metil alanina.

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 10 <223> AMIDACIÓN

<400> 16
Tyr Trp Leu Phe Arg Xaa Arg Asn
1 5

<210> 17
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 <221> característica_misc
 20 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa es N(alfa)-metil alanina.

<220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 17
Tyr Glu Leu Phe Arg Xaa Arg Asn
1 5

<210> 18
 30 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> variante NMU-8

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 18
Tyr Glu Leu Phe Arg Ala Arg Asn
 40 **1 5**

<210> 19
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <223> variante NMU-8

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 50 <223> AMIDACIÓN

<400> 19

Tyr Trp Leu Phe Arg Ala Arg Asn

1 5

<210> 20

<211> 8

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> variante NMU-8

<220>

10 <221> característica_misc

<222> (2)..(2)

<223> Xaa es 2-naftilalanina.

<220>

<221> característica_misc

15 <222> (6)..(6)

<223> Xaa es N(alfa)-metil alanina.

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

20 <223> AMIDACIÓN

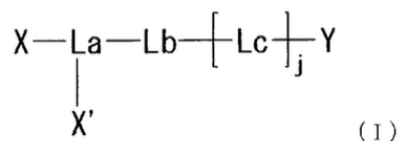
<400> 20

Tyr Xaa Leu Phe Arg Xaa Arg Asn

1 5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula



[en donde Y representa un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos presentada en la SEQ ID n.º 1, en donde están sustituidos de 1 a 4 aminoácidos,

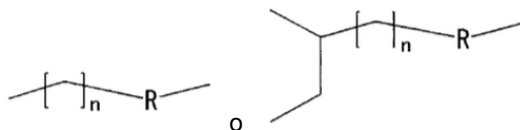
la sustitución de aminoácido se selecciona de:

- (1) sustitución de la Tyr de la posición 1 por Arg, Phe, NMeTyr o Pro;
- (2) sustitución de la Phe de la posición 2 por Glu, Tyr, Trp o Nal(2);
- (3) sustitución de la Leu de la posición 3 por Gln, Arg, Val, Cha o NMeLeu;
- 10 (4) sustitución de la Phe de la posición 4 por Trp;
- (5) sustitución de la Arg de la posición 5 por Gln o NMeArg;
- (6) sustitución de la Pro de la posición 6 por Ala o NMeAla; y
- (7) sustitución de la Arg de la posición 7 por Arg(Me) o NMeArg;

X representa un metoxipolietilenglicol;

15 X' está ausente o representa un metoxipolietilenglicol;

La es un grupo divalente o trivalente representado por la fórmula



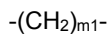
(en donde R representa un enlace y

n es un entero de 0);

20 Lb representa $-(CH_2)_i-$ (en donde i es un entero de 1 a 5);

Lc es un grupo divalente representado por la fórmula (i): $-NH-Q^c-C^b-$

[en donde Q^c es un grupo divalente representado por la fórmula:

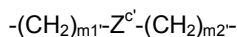


(en donde m1 es un entero de 0 a 15), y

25 C^b representa un enlace, $-CO-$ o $-SO_2-$, o

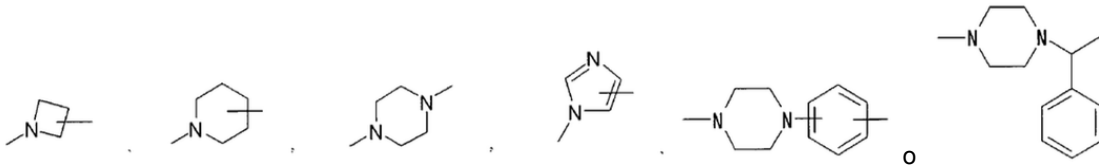
un grupo divalente representado por la fórmula (ii): $-Q^c-C^b-$

[en donde Q^c es un grupo divalente representado por la fórmula:



(en donde m1' es un entero de 0 a 15,

30 Z^c representa



y m_2' es un entero de 0 a 15), y

$C^{b'}$ representa un enlace $-CO-$ o $-SO_2-$; y

j es un entero de 1 a 3]; o

5 una sal del mismo.

2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, en donde Y es un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID n.º 2 a 10 y 12 a 20.

3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, en donde la distancia desde el átomo de nitrógeno más cercano al L_b del L_c hasta el átomo de nitrógeno del extremo amino de la neuromedina U es de 3,5 a 10 30 Å.

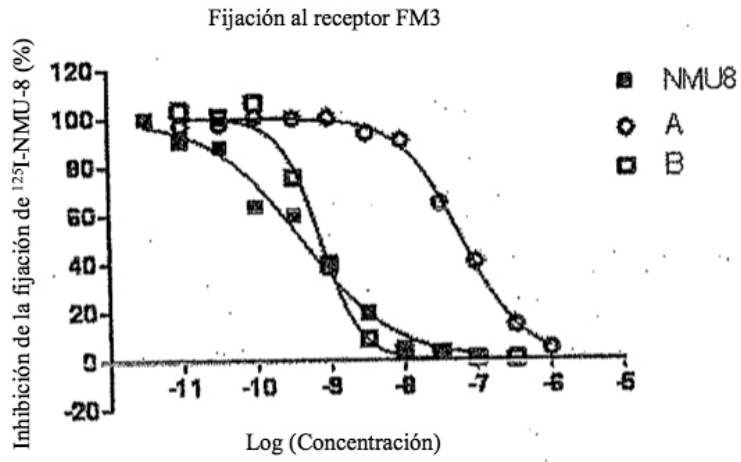
4. Agente anorexígeno, que comprende el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo.

5. Agente para la prevención o el tratamiento de la obesidad, que comprende el compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo.

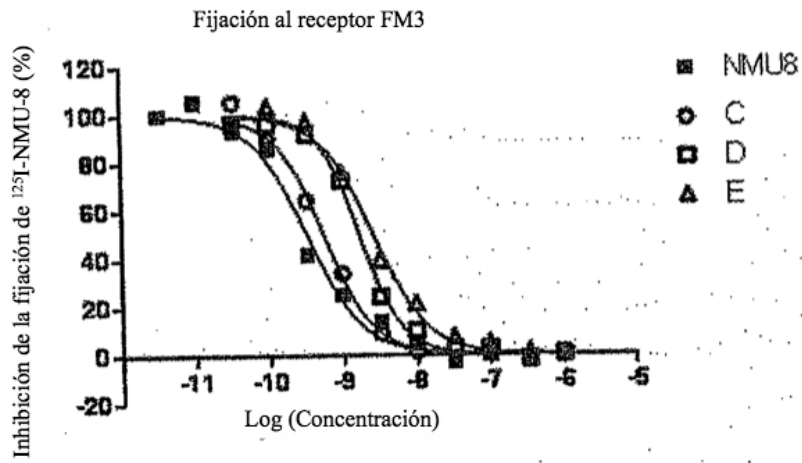
6. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, para ser usado en la prevención o el 15 tratamiento de la obesidad en un mamífero.

7. Utilización del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo, para producir un agente para la prevención o tratamiento de la obesidad.

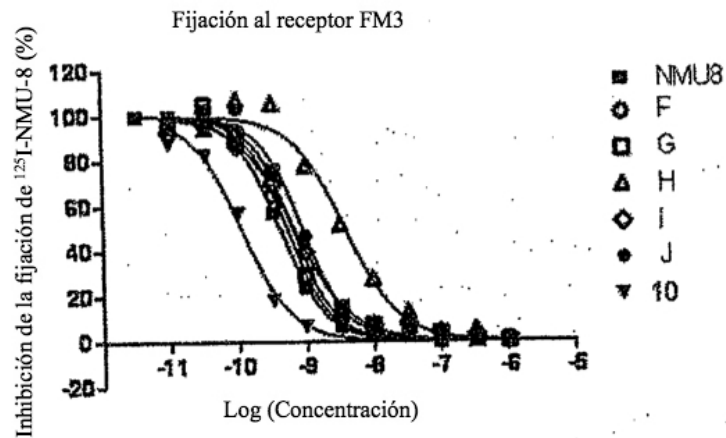
[Fig.1-1]



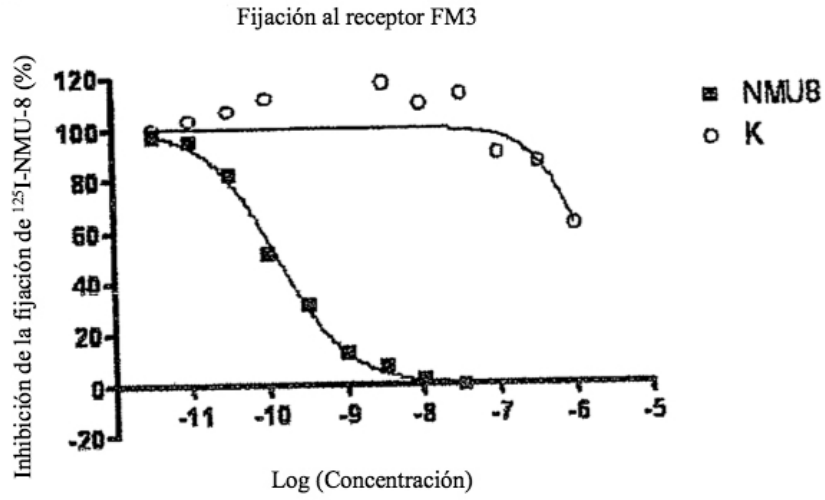
[Fig. 1-2]



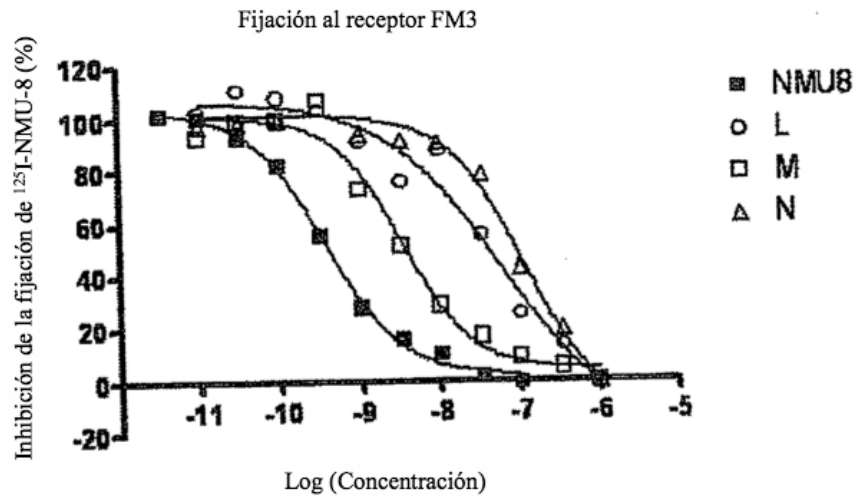
[Fig. 1-3]



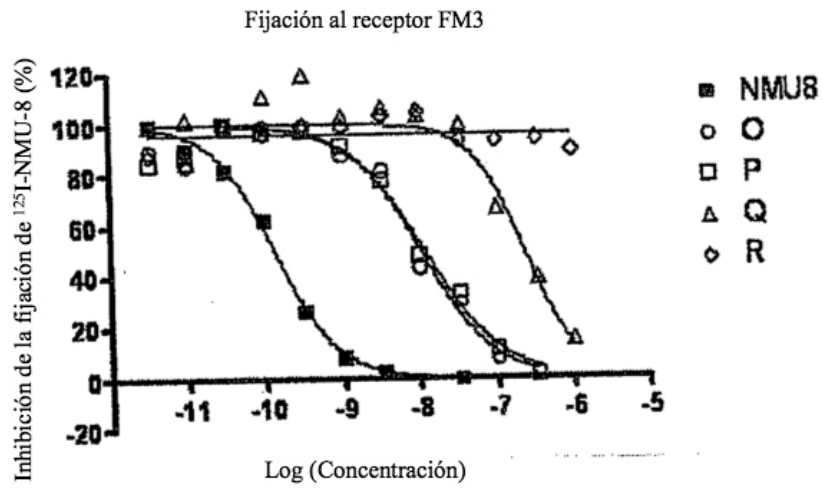
[Fig. 1-4]



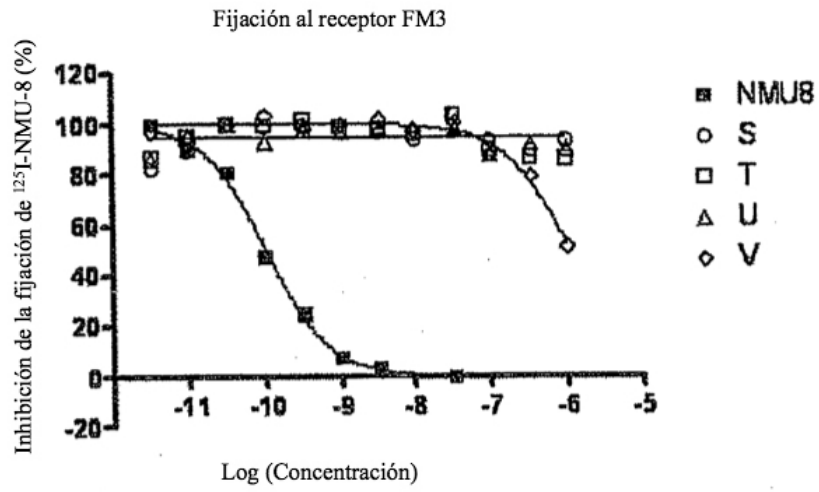
[Fig. 1-5]



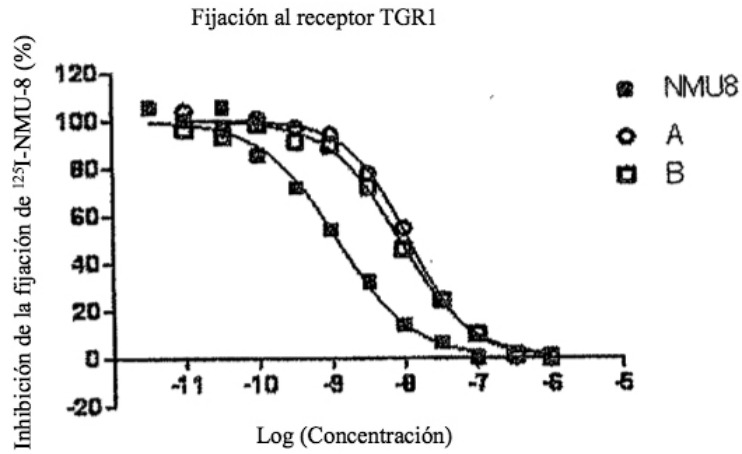
[Fig. 1-6]



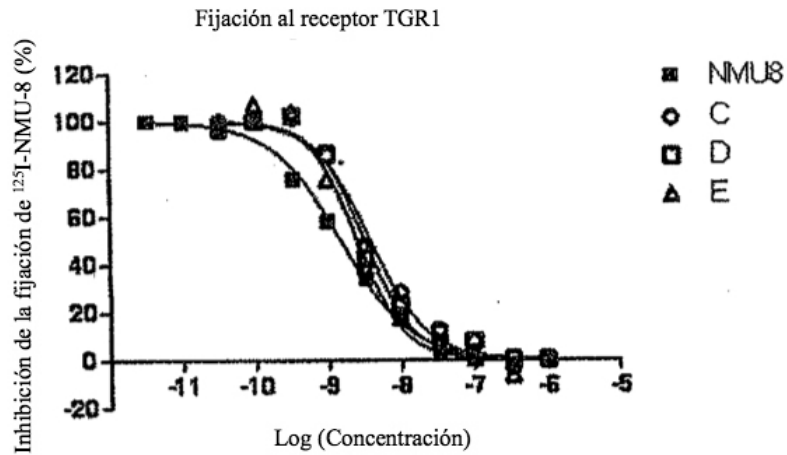
[Fig. 1-7]



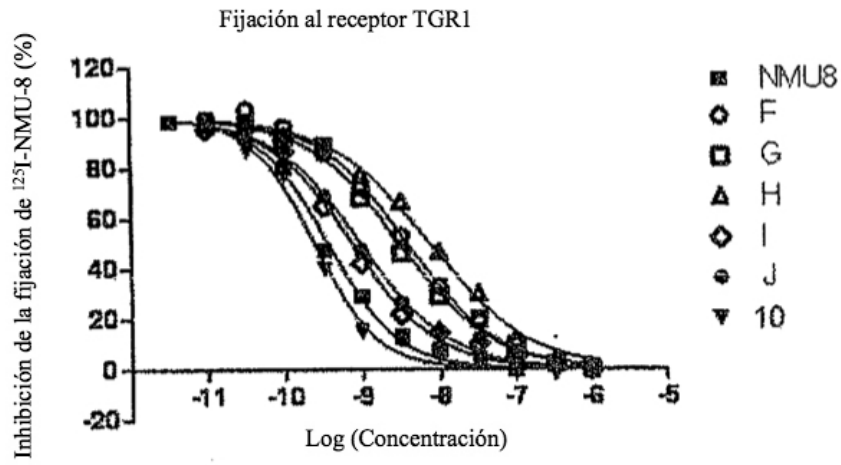
[Fig. 2-1]



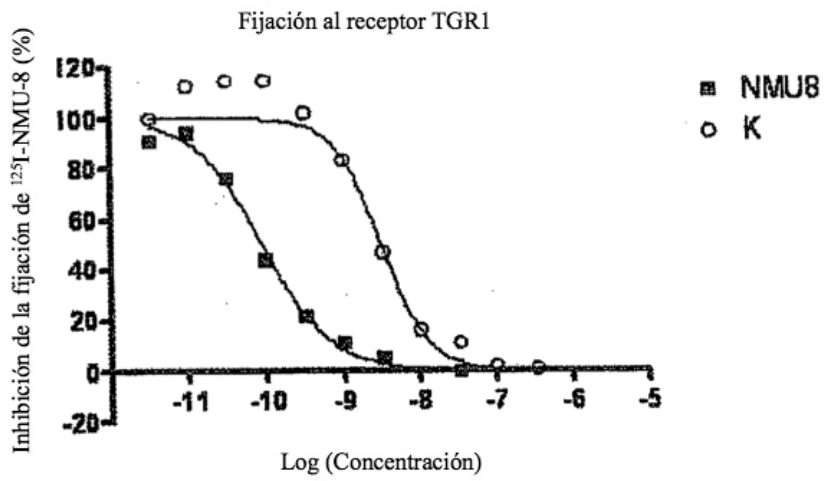
[Fig. 2-2]



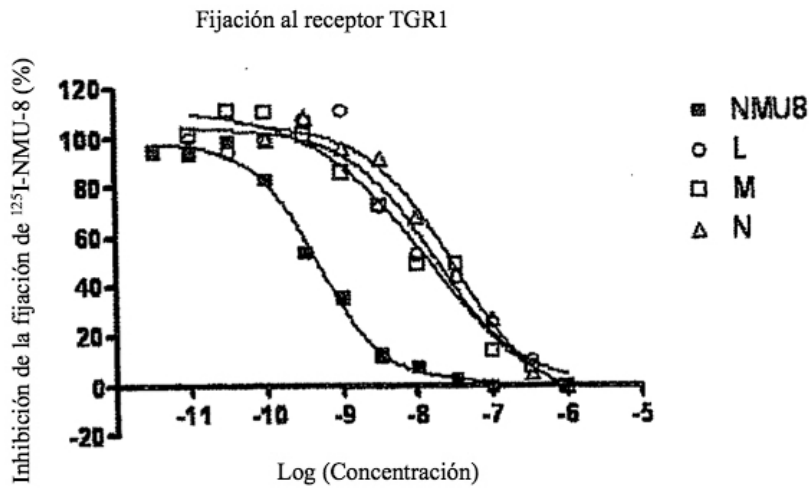
[Fig. 2-3]



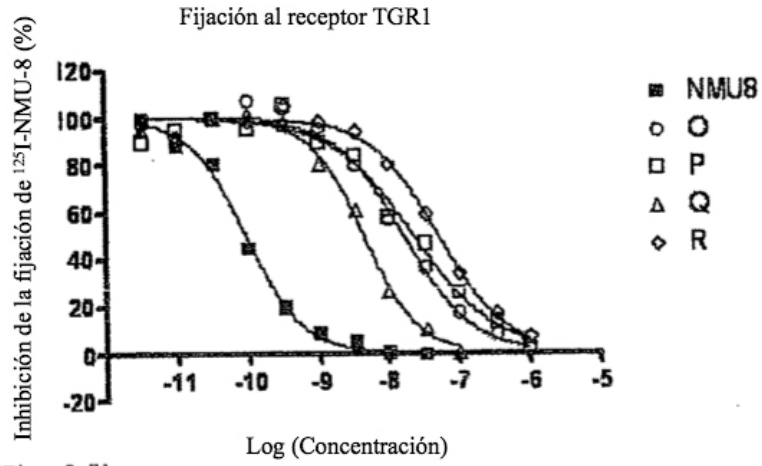
[Fig. 2-4]



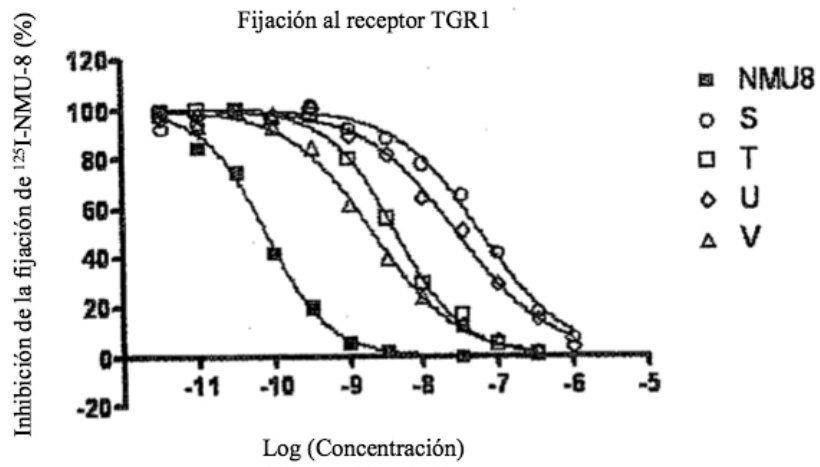
[Fig. 2-5]



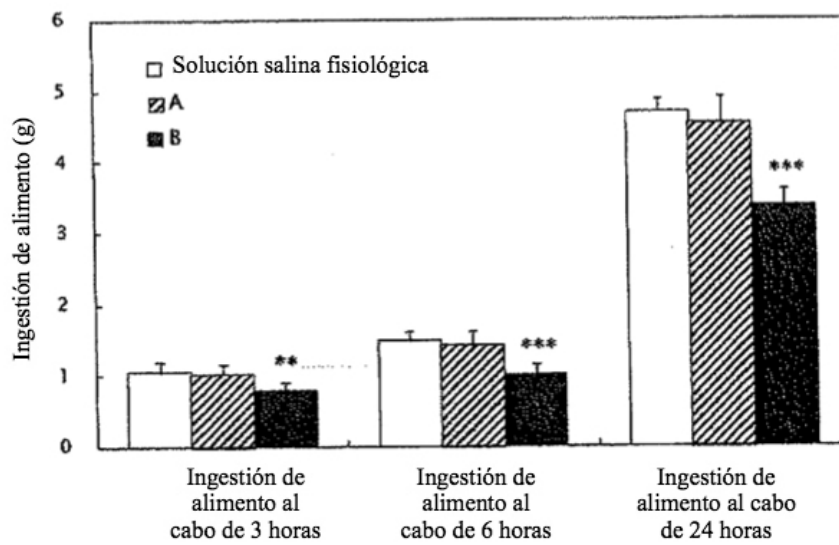
[Fig. 2-6]



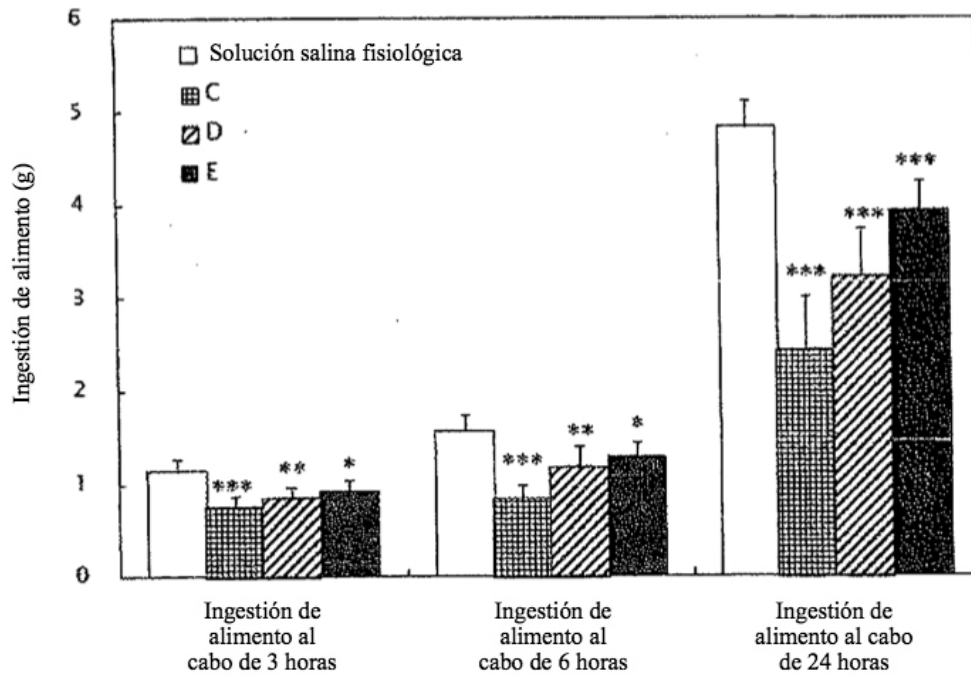
[Fig. 2-7]



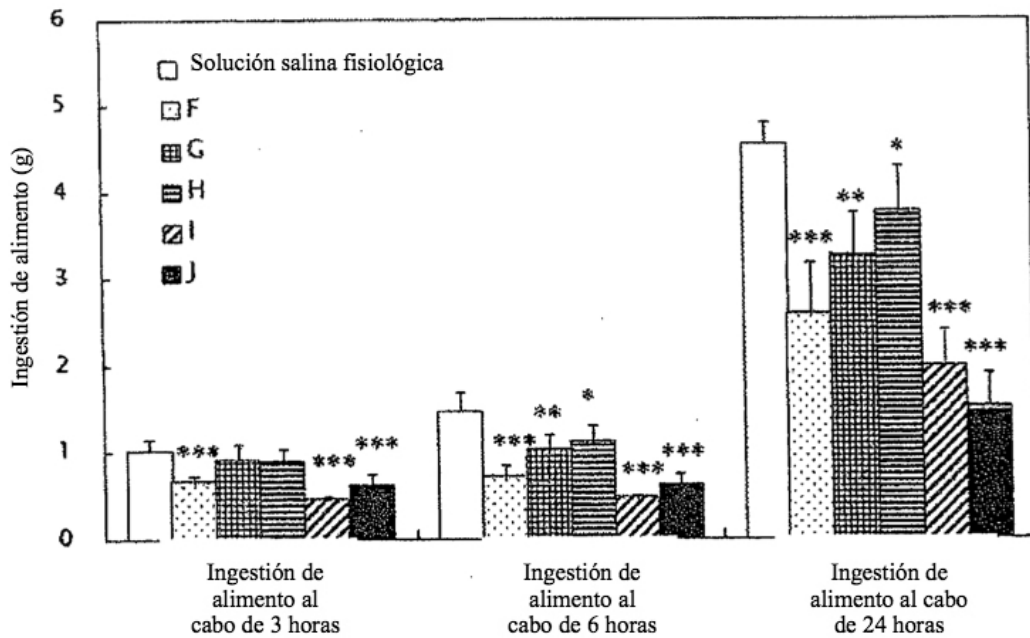
[Fig. 3]



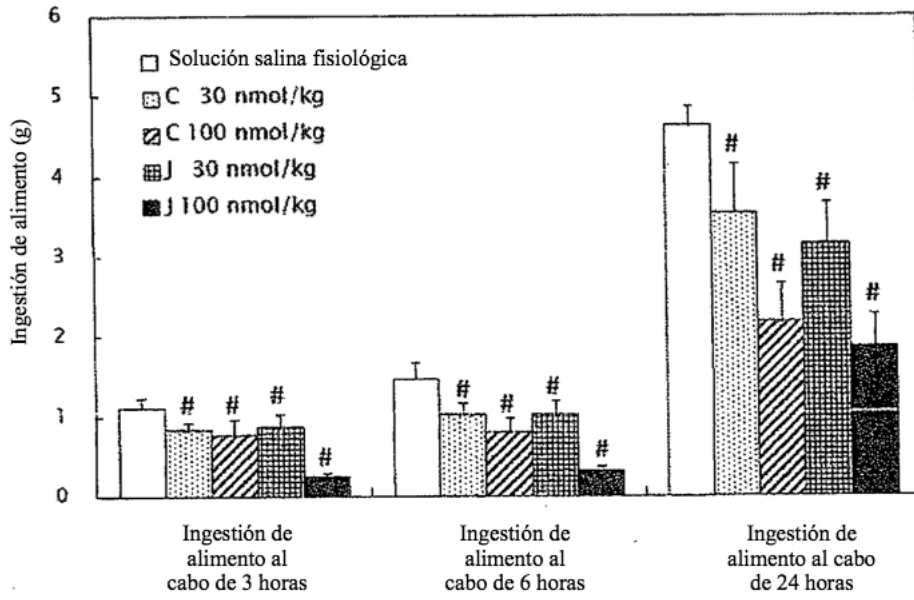
[Fig. 4]



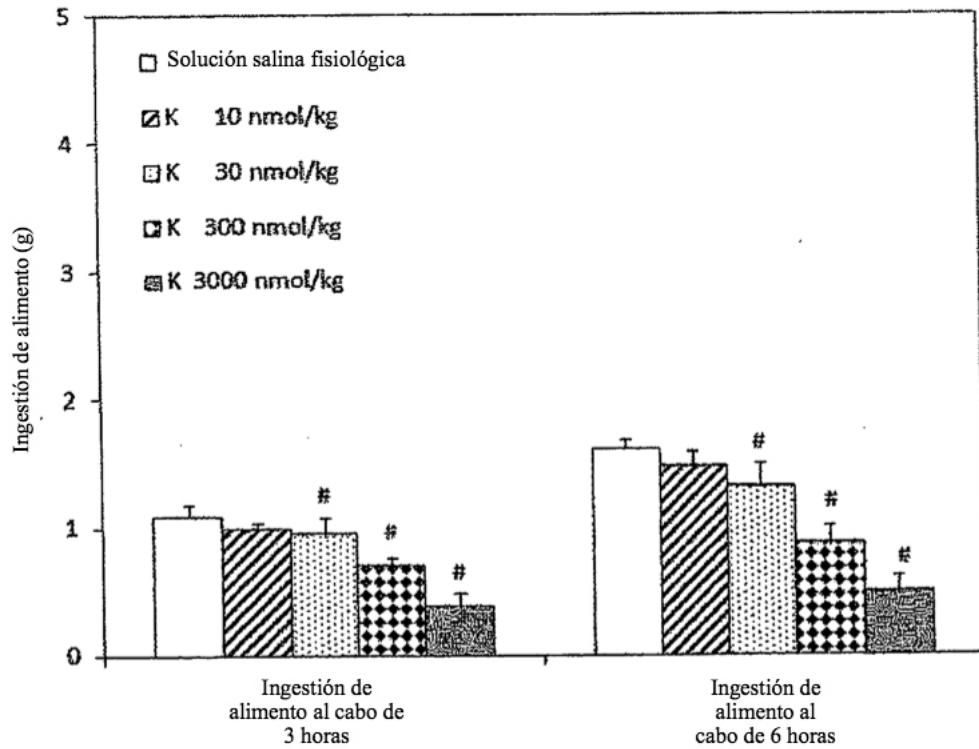
[Fig. 5]



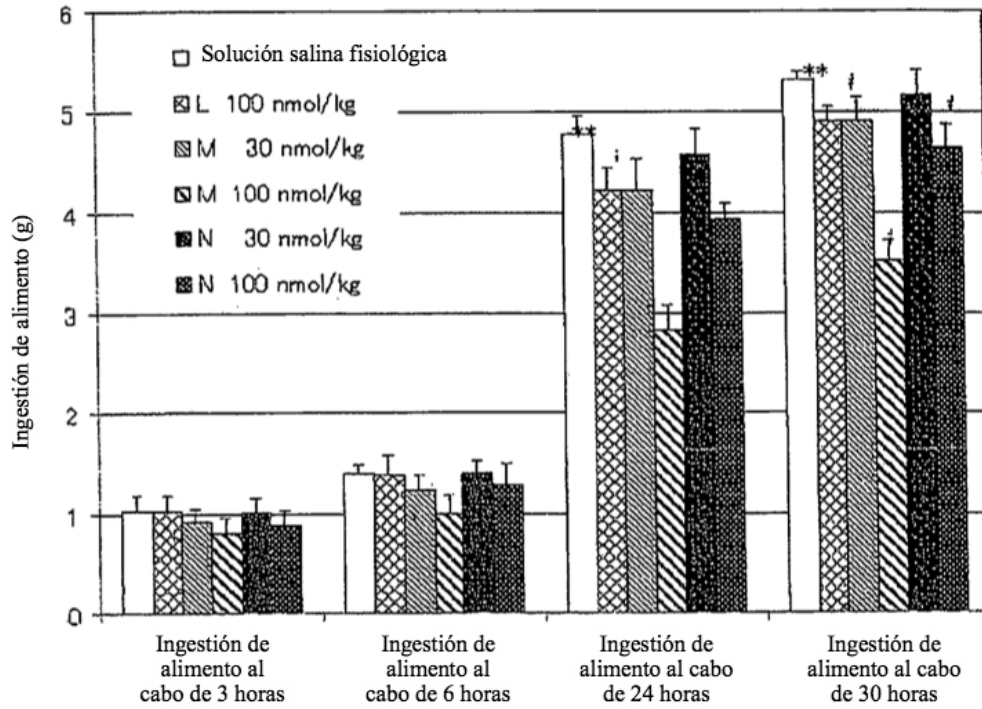
[Fig. 6]



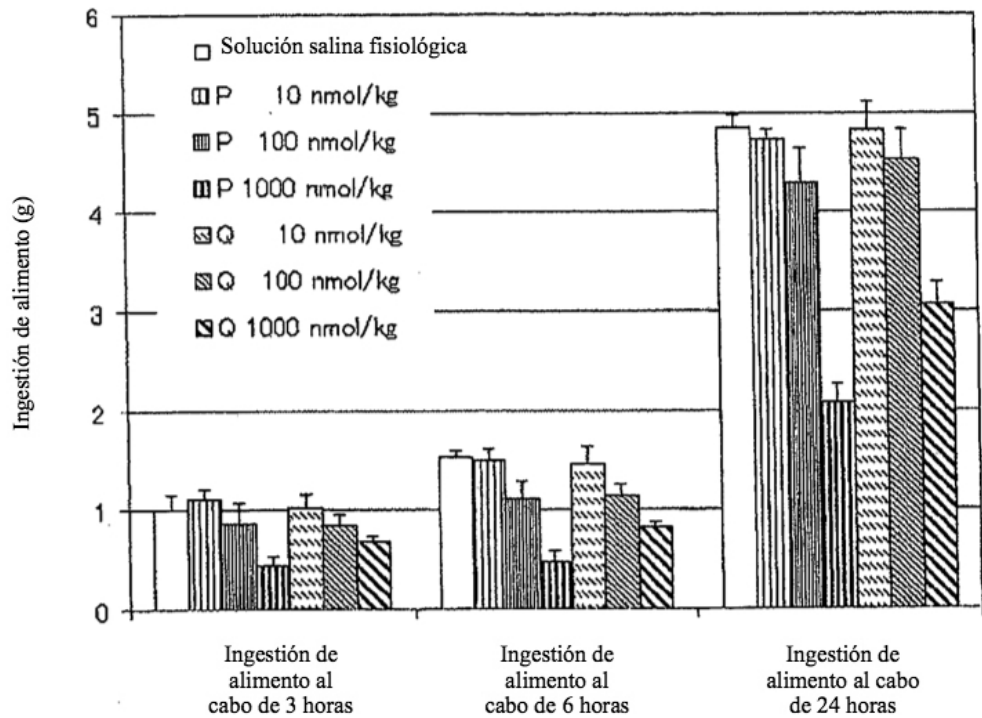
[Fig. 7]



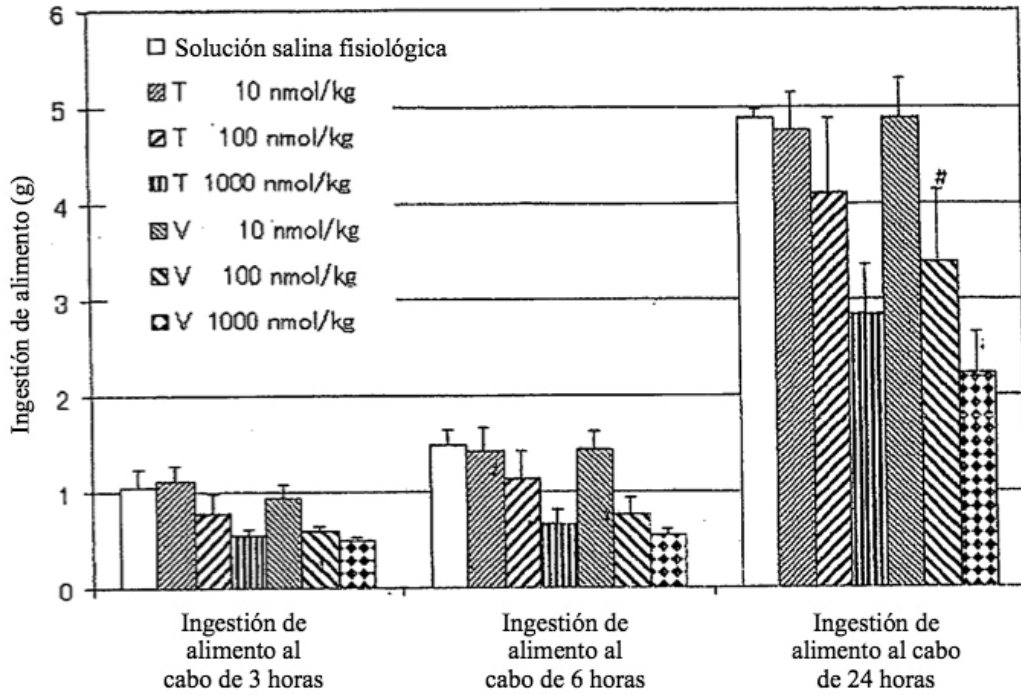
[Fig. 8]



[Fig. 9]



[Fig. 10]



[Fig. 11]

