



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 310 006**

(51) Int. Cl.:

C07K 7/08 (2006.01)

A61K 36/42 (2006.01)

A61K 38/10 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **98914405 .0**

(96) Fecha de presentación : **01.04.1998**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1005274**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **07.06.2000**

(54) Título: **Fracción activa por vía oral de *Momordica charantia*, péptidos activos de la misma y su uso en el tratamiento de diabetes.**

(30) Prioridad: **01.04.1997 US 831039**
02.05.1997 US 850855

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2008

(73) Titular/es: **Theracos, Inc.**
525 Del Rey Avenue, Suite A
Sunnyvale, California 94085, US

(72) Inventor/es: **Nag, Bishwajit;**
Medicherla, Satyanarayana y
Sharma, Somesh, D.

(74) Agente: **Fernández Lerroux, Aurelio**

ES 2 310 006 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

Fracción activa por vía oral de *Momordica charantia*, péptidos activos de la misma y su uso en el tratamiento de diabetes.

Campo técnico

El campo de esta invención es la diabetes.

Antecedentes de la invención

La diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM o tipo II) es la cuarta causa principal de muerte en los Estados Unidos y afecta a desde el 5 hasta el 7% de la población mundial total, con una prevalencia creciente en los países occidentales. En la diabetes, el organismo o bien no produce suficiente insulina o bien la insulina que se produce no es eficaz, dando como resultado un aumento de la glucemia, un estado conocido técnicamente como hiperglucemia. Aunque la diabetes puede afectar a personas de cualquier edad, la mayoría de los diabéticos tienen más de 45 años. La enfermedad tiende a producirse en familias y el factor de riesgo de adquirir la enfermedad aumenta en individuos con sobrepeso.

La diabetes es una enfermedad crónica sin curación y está relacionada con varios trastornos distintos. Es la causa principal de ceguera en personas con edades de 25-74 años. El diez por ciento de todas las personas con diabetes desarrollan enfermedad renal. La diabetes es la causa más frecuente de amputación no traumática de extremidades inferiores. El riesgo de amputación de pierna es 30 veces mayor para las personas con diabetes. Las personas con diabetes tienen de dos a cuatro veces más posibilidades de desarrollar enfermedades cardíacas, y tienen cinco veces más posibilidades de padecer accidente cerebrovascular.

La causa de la diabetes es todavía un misterio, aunque parece que tanto la genética como el entorno desempeñan un papel. Existen dos tipos de diabetes: insulino dependiente (tipo I) y no insulino dependiente (tipo II). La diabetes tipo I es una enfermedad autoinmunitaria que aparece frecuentemente en niños y adultos jóvenes. Todavía se desconoce el autoantígeno responsable de provocar la diabetes tipo I y los pacientes tienen que tomar insulina por vía i.v. diariamente para sobrevivir durante toda su vida.

La diabetes tipo II es un trastorno metabólico que resulta de la incapacidad del organismo de producir una cantidad suficiente de insulina o de usar de manera apropiada la insulina que produce, y se considera la forma más común de la enfermedad. Aunque la secreción de insulina y la resistencia a insulina se consideran los defectos principales, siguen siendo desconocidos los factores genéticos precisos implicados. Los pacientes con diabetes tienen normalmente uno o varios de los siguientes defectos. Éstos son: menos producción de insulina por el páncreas; secreción excesiva de glucosa por el hígado; alteración de la captación de glucosa por el músculo esquelético; defectos en los transportadores de glucosa (Glut-1, Glut-4); desensibilización de los receptores de insulina; y defecto en la degradación metabólica de polisacáridos.

El tratamiento actual utiliza cuatro clases de agentes hipoglucémicos a parte de insulina i.v. Éstas se resumen a continuación:

Clase	Fármacos	Mecanismos de	Limitaciones
	aprobados	acción	
Sulfonilureas	4 (1ª gen.) 2	Actúa sobre el	Desarrollo de
	(2ª gen.)	páncreas para	resistencia
		que libere más	
		insulina	

ES 2 310 006 T3

5	Biguanidas	Sólo una (metformina)	Reduce la secreción de glucosa por el hígado.	Problema hepático acidosis láctica
10			También mejora la sensibilidad frente a	
15			insulina.	
20	"-Glucosidas e inhibidor	Sólo una (acarbose)	Interfiere con el proceso digestivo.	Sólo a nivel postprandial.
25			Reduce la absorción de glucosa.	
30	Tiazolidin - diona	Sólo una (troglitazona)	Reduce la resistencia a insulina.	DDAA (dispositivo distal anastomótico automatizado) con insulina no para personas con enfermedades cardíacas y hepáticas.

50 Tal como es evidente a partir de la tabla anterior, cada uno de los agentes actuales disponibles para su uso en el tratamiento de la diabetes tiene ciertas desventajas. Por consiguiente existe un interés continuo en la identificación y el desarrollo de nuevos agentes para su uso en el tratamiento de diabetes.

55 *M. charantia* es una planta tropical cuyos frutos se usan como vegetal. Varios grupos han informado sobre la actividad hipoglucémica de la *M. charantia*, tanto en modelos de mamífero (Shibib *et al.*, Biochem. J., 292, 267-270 (1993); Ali *et al.*, Planta Med. 59, 408-412 (1993); Akhtar *et al.*, Planta Med. 42, 205-212 (1981)) como en seres humanos (Leatherdale *et al.*, Br. Med. J. 282, 1823-1824 (1981); Aslam *et al.*, Lancet, I. 607 (1979)). Sin embargo, siguen siendo desconocidos el componentes hipoglucémico y el mecanismo de acción.

60 Se informa del aislamiento de un péptido de 11 kDal obtenido a partir de *M. charantia* que tiene actividad de tipo insulina en: Khanna *et al.*, "Hypoglycemic Activity of Polipeptide-p from a Plant Source," 20th Annual Meeting of the American Society of Pharmacology, Purdue University, West Lafayette, 29 de julio - 3 de agosto, 1979; Baldwa *et al.*, Upsala J. med. Sci. (1977) 82:39-41 y patente estadounidense número 3.945.988. En todos estos informes, el polipéptido de tipo insulina se administró por vía no oral, por ejemplo por vía i.v. o por vía subcutánea.

65 Un informe reciente indica que el extracto alcohólico bruto de *M. charantia* disminuye parcialmente el nivel de glucosa en plasma mediante la estimulación de la síntesis de glucógeno en el hígado y es improbable que actúe como un agente secretor de insulina (Sarkar *et al.*, Pharmacol. Res., 33, 1 - 4 (1996)).

Los polipéptidos que muestran actividad hipoglucémica se tratan en un artículo técnico por Khanna *et al.* que se publicó en J. Nat. Prod., 1981, vol. 44, 648 - 655.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un péptido anti-hiperglucémico aislado según la reivindicación 1. La presente invención proporciona también composiciones farmacéuticas que comprenden tales péptidos.

La presente invención proporciona además el uso del péptido anti-hiperglucémico identificado en la fabricación de medicamentos para reducir las glucemias de los pacientes.

La presente invención proporciona también una composición soluble en agua, obtenida a partir de MC6 de *Momordica Charantia*, según la reivindicación 19. La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende tales composiciones solubles en agua.

La presente invención proporciona el uso de las composiciones solubles en agua identificadas en la fabricación de medicamentos para reducir las glucemias de los pacientes.

Breve descripción de las figuras

La figura 1A muestra los resultados de electroforesis en gel sobre SDS-PAGE al 20% de diversas fracciones solubles en agua de *M. charantia*;

la figura 1B muestra las preparaciones de MC6 purificadas; y la figura 1C muestra los resultados de HPLC de MC6;

la figura 2A es una representación gráfica que muestra el efecto de un extracto acuoso no purificado de *M. charantia* y un control sobre los niveles de glucosa en plasma a lo largo del tiempo en ratas SD; la figura 2B es una representación gráfica que muestra el efecto de MC6 administrada por vía oral sobre las glucemias a lo largo del tiempo en ratas SD;

las figuras 3A y B proporcionan representaciones gráficas del efecto de MC6 sobre las glucemias en ratas que padecen diabetes inducida por SZC;

la figura 4 es una representación gráfica que demuestra que la administración oral de MC6 no aumenta el nivel de insulina en suero; y

la figura 5 es una representación gráfica que demuestra que la administración oral de MC6 es tan eficaz como la administración i.v. de r-insulina para reducir las glucemias.

Las figuras 6(a) y (b) muestran los resultados del análisis en SDS-PAGE de MC6.1 en un gel de gradiente de tris-glicina al 4-20% usando tinción con azul de coomassie y con plata, respectivamente.

La figura 7 proporciona una representación gráfica de los resultados obtenidos a partir de la purificación de MC6.1 usando RP-HPLC en C18.

Las figuras 8a y b proporcionan los resultados del análisis del punto isoelectrico para MC6.1.

La figura 9 proporciona los resultados del análisis de RMN de MC6.1

La figura 10 proporciona una representación gráfica del efecto de MC6.1 sobre las glucemias.

La figura 11 proporciona una representación gráfica de la actividad hipoglucémica de MC6.1, 6.2 y 6.3 en pruebas de tolerancia a la glucosa oral en ratas normales.

La figura 12 proporciona una representación gráfica de la capacidad de disminución de la glucosa de MC6.2 en ratas diabéticas.

La figura 13 es una representación gráfica del efecto hipoglucémico de MC6.2 en ratones diabéticos no obesos.

Descripción de las realizaciones específicas

Se proporcionan una fracción soluble en agua de *M. charantia* denominada MC6, un componente peptídico activo de la misma denominado MC6.1, y derivados peptídicos del mismo, MC6.2 y MC6.3, métodos para su preparación y su uso en el tratamiento de trastornos hiperglucémicos. MC6 se caracteriza porque comprende tres péptidos que se desplazan juntos como una única banda sobre SDS-PAGE con un peso molecular de 10 kDa y tiene un tamaño más pequeño que la insulina recombinante. MC6 y MC6.1 muestran actividad hipoglucémica y son activos por vía oral.

ES 2 310 006 T3

Para describir adicionalmente la presente invención, se describirán adicionalmente en mayor detalle las características de MC6 y MC6.1, seguido de una descripción de los métodos para su preparación y su uso en el tratamiento de trastornos hiperglucémicos, particularmente en el tratamiento de seres humanos que padecen diabetes.

- 5 Los derivados, MC6.2 y MC6.3 son, respectivamente, derivados peptídicos de 11 aa y 7 aa del péptido de 18 aa, MC6.1.

Antes de describir adicionalmente la presente invención, ha de entenderse que la invención no se limita a las realizaciones particulares de la invención descritas a continuación, ya que pueden realizarse variaciones de las realiza-
10 ciones particulares y entrar todavía dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. También ha de entenderse que la terminología empleada es para el fin de describir realizaciones particulares y no pretende ser limitante. En cambio, el alcance de la presente invención se establecerá por las reivindicaciones adjuntas.

Debe observarse que tal como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas
15 singulares “un”, “una” y “el”, “la” incluyen referencia plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

MC6 de la presente invención es una fracción o extracto soluble en agua de la especie vegetal *M. charantia*.
20 Aunque MC6 puede derivarse de uno o más tejidos o componentes de la *M. charantia*, incluyendo las hojas, tallos, raíces, fruto, semillas y similares, incluyendo toda la planta *M. charantia*, MC6 se deriva normalmente del fruto de *M. charantia*, preferiblemente del fruto de *M. charantia* no maduro que se ha separado de las semillas.

MC6 se caracteriza porque se desplaza como una única banda sobre SDS-PAGE al 20%, siendo el peso molecular
25 de la única banda inferior a 10 kDal, siendo la potencia del campo eléctrico aplicado durante SDS-PAGE al 20% de 100 V. La MC6 tiene un tamaño más pequeño que la insulina recombinante, y por tanto es inferior a aproximadamente 6 kDal. MC6 se caracteriza además porque eluye como tres picos tras la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siendo las condiciones de la HPLC de fase inversa en columnas C8 o C18. En estas condiciones, el primer pico eluye a los 11,33 min., el segundo pico eluye a 25,35 min. y el tercer pico eluye a 34,67 min.

La MC6 de la presente invención es una preparación libre de contaminantes de alto peso molecular, por ejemplo
30 proteínas, usándose contaminantes de alto peso molecular en esta solicitud para denotar moléculas que tienen un peso molecular en exceso de aproximadamente 50 kDal. Normalmente, la MC6 está libre de cualquier contaminante que tenga un peso molecular en exceso de 10 kDal.

La MC6 muestra actividad hipoglucémica en mamíferos. Actividad hipoglucémica significa que tras la adminis-
35 tración de MC6 al mamífero disminuye la glucemia del mamífero, siendo la cantidad de disminución en la glucemia proporcional a la cantidad de MC6 administrada al mamífero. MC6 muestra actividad hipoglucémica ya se administre por vía oral o por vía intravenosa, y por tanto es activo por vía oral y biodisponible por vía oral, lo que significa que
40 no se inactiva al pasar desde el tubo digestivo hacia el mamífero.

La MC6 puede prepararse usando cualquier medio conveniente que proporcione la separación de MC6 del tejido
de *M. charantia* fuente. Un medio de obtención de MC6 a partir de tejido de *M. charantia* es preparar en primer
45 lugar una suspensión de partida del tejido macerando el tejido en presencia de un disolvente, por ejemplo solución salina tamponada con fosfato (PBS), agua y similares, pudiéndose lograr la maceración usando una mezcladora u otro medio de maceración. Entonces se separa la materia particulada de la suspensión resultante y se desecha de la fase líquida, pudiéndose lograr esta etapa mediante centrifugación, normalmente a una velocidad entre aproximadamente
50 10.000 y 16.000 rpm, seguido de filtración del sobrenadante, siendo la filtración generalmente mediante filtros que tienen tamaños de poro que oscilan desde 0,5 hasta 0,10 μ , normalmente desde aproximadamente 0,45 hasta 0,22 μ ,
55 pudiendo ser la filtración a vacío. Entonces se hace pasar el filtrado resultante secuencialmente a través de membranas de corte molecular de 30 kDal y 10 kDal, conociéndose en la técnica tales membranas e incluyendo membranas representativas filtros de corte molecular Amicon M.W. y similares, para obtener una fracción soluble en agua del tejido de *M. charantia* inicial que contiene MC6. La fracción soluble en agua resultante puede usarse tal como está o procesarse adicionalmente para su uso posterior, pudiendo incluir el procesamiento adicional deshidratación, por
ejemplo liofilización, y similares. La fracción soluble en agua resultante puede almacenarse también en forma líquida
a desde 1 hasta 5, normalmente de 2 a 4 C en presencia de conservantes, tales como benzoato de sodio y similares.

MC6.1 es un componente peptídico específico de MC6 que migra como una única banda en el análisis en SDS-
PAGE (gel de gradiente de tris-glicina al 4-20%) y tiene un peso molecular tal como se determina mediante SDS-
60 PAGE inferior a 2,5 kDa. MC6.1 tiene un punto isoeléctrico de 8,2. MC6.1 es de 18 residuos de aminoácidos de longitud, siendo la secuencia de aminoácidos de MC6.1:

K-T-N-M-K-H-M-A-G-A-A-A-G-A-V-V-G (SEQ ID NO: 01)

MC6.1 muestra actividad hipoglucémica en mamíferos. El MC6.1 de la presente invención es MC6.1 que se ha
65 separado de su entorno natural, por ejemplo está presente en MC6, está en forma aislada o pura, y similares.

También se proporcionan análogos y miméticos peptídicos de MC6.1 que muestran actividad hipoglucémica. Los análogos y miméticos de MC6.1 comprenderán, como secuencia de motivos activos, al menos 8 aminoácidos, normalmente al menos aproximadamente 12 aminoácidos, más normalmente al menos aproximadamente 18 aminoácidos, y menos de aproximadamente 40 aminoácidos, más normalmente menos de 30 aminoácidos. Péptidos específicos son MC6.2, un derivado de 11 aa de MC6.1 que tiene la secuencia:

K-T-N-M-K-H-M-A-G-A-A (SEQ ID NO: 02)

y un derivado de 7 aa que tiene la secuencia:

K-T-N-M-K-H-M (SEQ ID NO: 03).

Se entiende que pueden realizarse hasta aproximadamente tres sustituciones o deleciones en las secuencias objeto, en las que el cambio no será superior a aproximadamente el 20% en número, normalmente no superior a aproximadamente el 10% en número del número de aminoácidos en el motivo activo. Se prefieren sustituciones conservativas, tal como se conocen en la técnica, incluyendo sustituciones dentro del gran grupo hidrófobo: isoleucina, leucina, valina y fenilalanina; entre serina y treonina; glicina y alanina; asparagina y glutamina; ácido aspártico y ácido glutámico; o lisina, arginina e histidina.

Además de la purificación a partir de su fuente natural, el MC6.1, así como análogos y miméticos peptídicos del mismo, tales como MC6.2 y MC6.3, pueden prepararse según técnicas convencionales, tales como síntesis (por ejemplo, el uso de un sintetizador de péptidos Beckman modelo 990 u otro sintetizador comercial). Pueden producirse péptidos directamente mediante métodos recombinantes (véase Sambrook *et al.* Molecular Cloning: A Laboratory Manual, CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) o como una proteína de fusión, por ejemplo a una proteína que es una de una pareja de unión específica, permitiendo la purificación de la proteína de fusión por medio de reactivos de afinidad, seguido de escisión proteolítica, normalmente en un sitio modificado mediante ingeniería genética para proporcionar el péptido deseado (véase por ejemplo Driscoll *et al.* (1993) J. Mol. Bio. 232:342-350).

Los oligopéptidos (es decir MC6.1, análogos de MC6.1, miméticos de MC6.1) pueden extenderse para proporcionar sitios de unión convenientes, por ejemplo cisteína o lisina, para potenciar la estabilidad, para unirse a receptores particulares, para proporcionar acción dirigida al sitio, para proporcionar facilidad de purificación, para alterar las características físicas (por ejemplo solubilidad, carga, etc.), para estabilizar la conformación, etc. Los oligopéptidos pueden estar unidos a regiones flanqueantes no de tipo natural como proteínas fusionadas, unidos o bien mediante grupos de unión o bien unidos covalentemente a través de enlaces peptídicos o de cisteína (disulfuro). El oligopéptido puede estar unido a través de una variedad de agentes bifuncionales, tales como ácido maleimidobenzoico, ácido metilditioacético, ácido mercaptobenzoico, ditiopropionato de S-piridilo, etc. Los oligopéptidos pueden estar unidos a un único aminoácido en el extremo N o C terminal de una cadena de aminoácidos, o pueden estar unidos de manera interna. Por ejemplo, los péptidos objeto pueden estar covalentemente unidos a una proteína inmunogénica, tal como hemocianina de lapa californiana, ovoalbúmina, etc. para facilitar la producción de anticuerpos frente a los oligopéptidos objeto.

Alternativamente, los oligopéptidos objeto pueden expresarse conjuntamente con otros péptidos o proteínas, de modo que sea una parte de la cadena, o bien interna, o bien en el extremo N o C terminal. Pueden lograrse diversas modificaciones posteriores a la expresión. Por ejemplo, empleando las secuencias codificantes apropiadas, puede proporcionarse farnesilación o prenilación, de modo que el péptido objeto se unirá a un grupo lipídico en un extremo y podrá insertarse en una membrana lipídica, tal como un liposoma.

Los oligopéptidos objetos pueden pegarse, proporcionando el grupo polietilenoxilo un tiempo de vida potenciado en la circulación sanguínea. Los oligopéptidos objeto pueden combinarse también con otras proteínas, tales como la Fc de un isotipo de IgG para potenciar la unión de complemento, o con una toxina, tal como ricina, abrina, toxina diftérica, o similares, particularmente la cadena A. Los oligopéptidos pueden unirse a anticuerpos para la acción dirigida al sitio. Para técnicas de conjugación, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses números 3.817.837; 3.853.914; 3.850.752; 3.905.654; 4.156.081; 4.069.105; y 4.043.989, que se incorporan al presente documento como referencia.

MC6, MC6.1, MC6.2 y MC6.3 (así como análogos y miméticos de los mismos) de la presente invención se usan en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la presencia de glucemias elevadas, por ejemplo trastornos hiperglucémicos, tales como la diabetes mellitus, incluyendo tanto la diabetes tipo I como tipo II, así como otros trastornos relacionados con la hiperglucemia, tales como la obesidad, trastornos relacionados con aumento del colesterol renales, y similares. "Tratamiento" significa que MC6, MC6.1, MC6.2 y MC6.3 (así como análogos y miméticos de los mismos) se administran para al menos reducir la glucemia en el huésped que padece el trastorno hiperglucémico. Para tratar los trastornos hiperglucémicos con MC6 y los oligopéptidos objeto, se administran MC6 u oligopéptidos al huésped en una cantidad suficiente para reducir la glucemia en el huésped hasta un intervalo aceptable, significando intervalo aceptable $\pm 10\%$, normalmente $\pm 8\%$, y más normalmente $\pm 5\%$ de la glucemia promedio normal para el huésped.

Una variedad de huéspedes pueden tratarse según la presente invención para reducir sus glucemias, siendo tales huéspedes mamíferos e incluyendo ganado, animales raros o valiosos, animales domésticos, tales como perros y gatos, y seres humanos.

Son de particular interés métodos de tratamiento de trastornos hiperglucémicos humanos, tales como la diabetes, incluyendo la diabetes tanto tipo I como tipo II, en los que se administran MC6, MC6.1, MC6.2, MC6.3 y análogos y miméticos de los mismos al ser humano que padece el trastorno hiperglucémico para al menos reducir la glucemia del ser humano, reduciéndose la glucemia hasta aproximadamente el intervalo de glucemia normal para el ser humano. Aunque, los agentes activos pueden administrarse al ser humano usando cualquiera de las técnicas convenientes descritas anteriormente, es de particular interés la administración oral de agentes activos.

Para el tratamiento con la fracción MC6 o los péptidos MC6.1, 6.2 y/o 6.3, los compuestos activos pueden administrarse al huésped que padece el trastorno hiperglucémico usando cualquier técnica de administración conveniente, incluyendo tales técnicas intravenosa, intradérmica, intramuscular, subcutánea, oral y similares, siendo de particular interés las vías de administración orales. La dosificación administrada al huésped dependerá necesariamente de la vía mediante la que se administra la dosificación, pero generalmente oscilará desde aproximadamente 50 hasta 500 mg/70 kb de peso corporal humano, normalmente desde aproximadamente 100 hasta 200 mg/70 kg de peso corporal humano. Para tratar los trastornos hiperglucémicos humanos con MC6, la dosificación la fracción o el compuesto activos administrados al ser humano generalmente oscilará desde aproximadamente 50 hasta 500, normalmente desde aproximadamente 100 hasta 200 mg/70 kg de peso corporal humano.

En el uso la fracción o los compuestos activos según la presente invención, pueden combinarse con un vehículo fisiológicamente aceptable para producir una composición farmacéutica. La naturaleza del vehículo fisiológicamente aceptable con el que se combina la fracción o el compuesto o activo para producir la composición farmacéutica dependerá necesariamente del método mediante el cual se pretende administrar la composición farmacéutica. Los vehículos ilustrativos incluyen agua, por ejemplo agua estéril para inyección, solución salina y similares. Serán de interés particular los vehículos fisiológicamente aceptables adecuados para su uso en la administración oral. Tales vehículos se conocen en la técnica e incluyen agua, por ejemplo agua desionizada; solución salina, por ejemplo solución salina tamponada con fosfato, polvo liofilizado en forma de comprimidos y cápsulas, pudiendo incluir tales formas diversas cargas, aglutinantes etc. y similares. La cantidad de principio activo presente en la composición farmacéutica se seleccionará en vista del método mediante el cual va a administrarse la composición farmacéutica y puede determinarse empíricamente por los expertos en la técnica.

Para el tratamiento, MC6.2 y/o MC6.3 y análogos o miméticos oligopeptídicos de los mismos pueden administrarse por vía oral, por vía tópica o por vía parenteral, por ejemplo mediante inyección en un sitio particular, por ejemplo, por vía subcutánea, por vía intraperitoneal, por vía intravascular, por vía intranasal, por vía transdérmica o similares. Las formulaciones para la administración oral incluyen aquellas enumeradas anteriormente adecuadas para su uso con MC6. Las formulaciones para inyección comprenderán un medio fisiológicamente aceptable, tal como agua, solución salina, PBS, etanol acuoso, etilenglicoles acuosos o similares. Los conservantes solubles en agua que pueden emplearse incluyen bisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, ascorbato, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, borato fenilmercurio, parabenos, alcohol bencílico y feniletanol. Estos agentes pueden estar presentes en cantidades individuales de desde aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 5% en peso y de manera preferible aproximadamente del 0,01 a aproximadamente el 2%. Los agentes de tamponamiento solubles en agua adecuados que pueden emplearse son carbonatos, fosfatos, bicarbonatos, citratos, boratos, acetatos, succinatos alcalinos o alcalinotérreos y similares, tales como fosfato, citrato, borato, acetato, bicarbonato y carbonato de sodio. Aditivos tales como carboximetilcelulosa pueden usarse como portador en cantidades de desde aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 5% en peso. La formulación variará dependiendo del fin de la formulación, el modo particular empleado para modular la actividad del receptor, el tratamiento que se pretende y similares. La formulación puede implicar parches, cápsulas, liposomas, recubrimientos de liberación retardada, píldoras, o puede formularse en bombas para la administración continua. La dosificación específica puede determinarse empíricamente según los modos conocidos. Véase, por ejemplo Harrison's, Principles of Internal Medicine, 11ª ed. Braunwald *et al.* ed, McGraw Hill Book Co., Nueva York, 1987.

Generalmente, una dosis terapéuticamente eficaz de la fracción o los péptidos activos, análogos y miméticos de los mismos estará en el intervalo de aproximadamente 0,005 - 10, más normalmente desde aproximadamente 0,01 - 1 mg/kg de peso del huésped. Una dosis de este tipo será suficiente para lograr la actividad hipoglucémica deseada. La administración puede ser tan frecuente como diaria; normalmente no más de una o más veces al día, o tan infrecuente como semanalmente, dependiendo del nivel del fármaco que se administra. La cantidad administrada de oligopéptido se ajustará generalmente dependiendo de la semivida del péptido, pudiéndose emplear dosificaciones en la parte inferior del intervalo cuando el péptido tiene una semivida potenciada o se proporciona como un medicamento de liberación lenta, tal como una composición de liberación lenta que comprende partículas, introducido en una matriz que mantiene el péptido durante un periodo de tiempo prolongado, por ejemplo una matriz de colágeno, el uso de una bomba que infunde continuamente el péptido durante un periodo de tiempo prolongado en una velocidad sustancialmente continua o similares. Heller, Biodegradable Polymers in Controlled Drug Delivery, en: CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, vol. 1, CRC Press, Boca Raton, FL, 1987, páginas 39-90, describe la encapsulación para la administración del fármaco controlada y Di Colo (1992) Biomaterials 13:850-856 describe la liberación del fármaco controlada a partir de polímeros hidrófobos.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

Ejemplo 1

A. Aislamiento y purificación del componente activo de extracto de *Momordica Charantia*

5 Se lavaron frutos no maduros frescos de *Momordica Charantia*, se limpiaron y se extrajeron las semillas. Se mezcló la pulpa o bien en una solución salina tamponada con fosfato (PBS) o bien en agua desionizada. Se centrifugó la suspensión a 12.000 x g y se filtró a través de filtros estériles de 0,22 μ (obtenidos de Whatman) a vacío. Se hizo pasar el sobrenadante transparente secuencialmente a través de membranas de corte molecular de 30 kD, 10 kD y 3 kD obtenidas de Amicon filtration. Se analizaron las fracciones de corte molecular de 0,45 μ (1ª etapa), 0,22 μ (2ª etapa) y 10 kD (3ª etapa) mediante SDS-gel de poliacrilamida al 20% y se proporcionan los resultados en la figura 1A. La fracción purificada de la 3ª etapa mostró una única banda con un tamaño más pequeño que la insulina humana. Es evidente a partir del análisis en gel que la fracción purificada está libre de diversas bandas de proteína de alto peso molecular. Se purificaron varios lotes de MC6 marcada con fracción de corte molecular de 10 K en cantidades de gramo, tal como se muestra en la figura 1B. Se liofilizaron las fracciones resultantes purificadas para obtener MC6 libre de agua sin combinar.

Se sometieron de 100 a 500 mg de la MC6 liofilizada a cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (HPLC de fase inversa que usa gradiente lineal de TFA/acetonitrilo usando una columna C8 o C18 (analítica)) y se proporcionan los resultados en la figura 1C. El análisis de HPLC mostró tres picos principales con tiempos de retención de 17,35, 25,35 y 34,67 minutos respectivamente, lo que demuestra que MC6 comprende 3 péptidos.

B. Actividad hipoglucémica de MC6

Se comparó el efecto hipoglucémico de la fracción purificada con la preparación de extracto bruto de partida. Se privó de comida a las ratas SD (200 gramos promedio obtenidas de Charles River, MA) durante 3 horas y se les extrajo una alícuota de sangre de la vena de la cola para medir el nivel de glucosa en plasma basal. Se administraron por vía oral a cada rata 5 ml de preparación de extracto bruto o 1 ml de fracción purificada MC6 (500 :g) en PBS (tal como se preparó en la parte A anterior). Los animales control recibieron un volumen igual de PBS. Se anestesiaron las ratas usando suritol (por vía i.p.) (0,08 μ g/ml/kg, propanolol (1,7 μ g/min./kg)). Se canuló la vena yugular de cada rata y se infundió glucosa (18 mg/min./kg de peso corporal) en disolución de KCl 5 mM y NaCl 140 mM durante 3 horas. Se extrajo sangre de la arteria carótida a los 30, 60, 90, 150 y 180 minutos. Se estimó el nivel de glucosa en plasma mediante los métodos calorimétricos establecidos descritos en Kadish *et al.*, Clin. Chem. (1968) 14: 116.

Los resultados se presentan en la figura 2A. Los resultados demuestran que los animales a los que se administró extracto bruto tienen una disminución significativa en la glucemia en todos los puntos, siendo el efecto sustancialmente alto a los 60 minutos (con una diferencia relativa de casi el 100%). Paralelamente, tal como se muestra en la figura 2B, un 1 ml de fracción purificada acuosa de MC6 (500 :g) en PBS administrado por vía oral tiene un efecto similar al extracto bruto, lo que sugiere que la combinación de polipéptidos aislados de MC6 es el principio activo principal en el extracto bruto.

C. Efecto de MC6 sobre modos preventivo y de tratamiento

El siguiente conjunto de experimentos se llevó a cabo para demostrar la eficacia de la fracción purificada tanto en los modos preventivo como de tratamiento de diabetes en un modelo animal. Se indujo diabetes en ratas SD macho (200-225 g cada una) usando estreptozotocina (40 mg/kg de peso corporal) (obtenida de Sigma Chem., MO). En el modelo preventivo, los animales recibieron por vía oral 1 ml (500 :g) de la fracción purificada MC6 diariamente a partir del día 0. En el modelo de tratamiento, los animales recibieron por vía oral 1 ml de la fracción purificada MC6 (500 :g) al comienzo de la enfermedad en el día 5. Se monitorizaron los niveles de glucosa en suero diariamente durante un periodo de 15 días. Tal como se muestra en la figura 3A y 3B, la fracción purificada MC6 es sumamente eficaz tanto en los modos preventivo como de tratamiento ($p < 0,001$ en el día 10).

El efecto de MC6 en el modo preventivo de la diabetes inducida por estreptozotocina apoya también fuertemente la idoneidad de usar MC6 para tratar la diabetes autoinmunitaria tipo I.

D. Efecto de MC6 sobre el nivel de insulina en suero

Se midieron los niveles de insulina en suero de animales en diferentes días del experimento descrito en la parte C para examinar el papel de MC6 en la regulación de la insulina sistémica durante el efecto hipoglucémico. Se llevó a cabo la medición cuantitativa del nivel de insulina en suero mediante radioinmunoanálisis (ensayo LINKO) tal como se describe en Hales & Randle, Biochem. J. (1963) 88:137. La figura 4 muestra que la administración oral de esta fracción no tuvo ningún efecto sobre la potenciación del nivel de insulina en suero, lo que sugiere que el efecto de esta fracción no está mediado a través de la secreción de insulina por el páncreas. En la figura 4, la diabetes se indujo con estreptozotocina. Al grupo sin tratar se le administró PBS solamente; al grupo con SZC se le administraron 40 mg/kg de SZC; al grupo preventivo se le administró MC6 por vía oral a partir del día 1; y al grupo de tratamiento se le administró MC6 a partir del día 5. Se midió la insulina mediante RIA (radioinmunoanálisis) habitual. Los datos representan el promedio de la determinación por triplicado.

E. La administración oral de MC6 es igualmente eficaz que la inyección sistémica de insulina

En el siguiente experimento, se comparó la fracción MC6 (500 :g) purificada administrada por vía oral con la inyección i.v. de insulina (150 mU) en ratas SD. Se dividieron los animales en cuatro grupos y se les privó de comida durante tres horas. El grupo 1 recibió PBS solamente; al grupo 2 se le administró MC6 por vía oral 60 minutos antes de la infusión de glucosa; el grupo 3 recibió 150 mU de r-insulina (Humalin-R® de Novo-Nordisk) por vía i.v. a 60 minutos tras la infusión de glucosa a través de la vena yugular y el grupo 4 recibió 500 :g de MC6 en 1 ml de PBS (por vía i.v.) a los 60 minutos tras la infusión de glucosa a través de la vena yugular. En todos los casos, la infusión de glucosa fue a 18 mg/min./kg. Se extrajeron muestras de sangre de la arteria carótida a diferentes intervalos de tiempo y se midieron los niveles cuantitativos de glucosa en plasma mediante calorimetría.

Los resultados se presentan en la figura 5. Los resultados muestran que la administración oral de MC6 es comparable a la inyección i.v. de r-insulina en un periodo de tiempo de 120 minutos. Además, la inyección sistémica de esta fracción y r-insulina mostró un perfil hipoglucémico idéntico. Estos resultados demuestran que la fracción purificada es eficaz por vía oral y por vía sistémica.

F. Caracterización de MC6.1

Se caracterizó MC6.1 adicionalmente mediante análisis en SDS-PAGE en gel de gradiente de tris-glicina del 4 al 20% usando o bien tinción con plata o bien azul de coomassie para la visualización de las bandas resueltas. Los resultados se proporcionan en las figuras 6a y 6b.

G. Purificación adicional de MC6.1

Se purificó MC6.1 adicionalmente y se analizó mediante RP HPLC en C-18 (gradiente de tampón A en TFA al 0,1%; 60% de AcN en 0,1% de TFA. Los resultados se proporcionan en la figura 7.

H. Punto isoeléctrico de MC6.1

Se analizó el punto isoeléctrico de MC6.1 y se encontró que era 8,2. Los resultados se proporcionan en las figuras 8a y 8b.

I. Análisis de RMN de MC6.1

Se realizó el análisis de RMN de protón de MC6.1 y los resultados se proporcionan en la figura 9.

J. Actividad hipoglucémica de MC6.1

Se sometió a ensayo la actividad hipoglucémica de MC6.1 de una manera análoga al ejemplo B. anterior. Se utilizaron ratas SD macho que pesaban en promedio 220 g. Se les administraron por vía oral a las ratas 50 µg de MC6.1 en 500 µl. A las ratas control se les administró PBS. Los resultados se proporcionan en la figura 10. Los resultados demuestran que MC6.1 muestra actividad hipoglucémica tras la administración oral.

Ejemplo 2

La figura 11 representa la actividad hipoglucémica de MC6.1 y sus derivados MC6.2 y 6.3 análogos en una prueba de tolerancia a la glucosa oral en ratas normales. Los tres péptidos fueron eficaces para disminuir la glucemia en este experimento en comparación con los animales tratados con vehículo.

Se evaluó adicionalmente la capacidad de disminución de la glucosa de MC6.2 (péptido de 11 aminoácidos) en ratas diabéticas. Se inyectó estreptozotocina a una dosis de 40 mg/kg de peso corporal en ratas SD de 200 g promedio. Tal como se muestra en la figura 12, el tratamiento oral de las ratas diabéticas (glucemia promedio de 330 mg/dl) con MC6.2 a una dosis de 100 -g/rata (0,5 mg/kg de peso corporal) disminuyó la glucemia de manera significativa en comparación con el grupo control.

Se evaluó el efecto hipoglucémico de MC6.2 (péptido de 11 aminoácidos) en el modo de tratamiento en ratones diabéticos no obesos (DNO). Tal como se muestra en la figura 13, la administración oral de MC6.2 en ratones DNO diariamente tiene un efecto significativo sobre la glucemia en comparación con los animales tratados con vehículo.

Estos resultados demuestran que los residuos de 7-11 aminoácidos N-terminales de MC6.1 son importantes para reducir la glucemia lo que es útil para el desarrollo de compuestos terapéuticos para el tratamiento de la diabetes humana.

ES 2 310 006 T3

Es evidente a partir de la discusión y los resultados anteriores que se proporcionan un extracto novedoso de *M. charantia* y agentes peptídicos específicos que son útiles en el tratamiento de trastornos hiperglucémicos, particularmente la diabetes. Puesto que los agentes activos de la invención no provocan una regulación por incremento en la cantidad de insulina producida por el organismo, proporcionan un mecanismo alternativo útil para regular las glucemias. Además, puesto que MC6 y el péptido MC6.1, 6.2 y 6.3 son activos por vía oral, proporcionan ventajas significativas con respecto a los productos de insulina convencionales que se han usado en el tratamiento de la diabetes que deben introducirse por medios de administración menos convenientes y más invasivos, tales como por vía i.v.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Péptido anti-hiperglucémico aislado seleccionado del grupo que consiste en la SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2 y SEQ ID NO. 3.

2. Péptido aislado según la reivindicación 1, que consiste en la secuencia de aminoácidos: KTNMKH MAGAAAA GAVVG (SEQ ID NO. 1).

3. Péptido aislado según la reivindicación 1, que consiste en la secuencia de aminoácidos: KTNMKH MAGAA (SEQ ID NO. 2).

4. Péptido aislado según la reivindicación 1, que consiste en la secuencia de aminoácidos: KTNMKHM (SEQ ID NO. 3).

5. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de al menos uno de los péptidos según las reivindicaciones 1 a 4 en un vehículo fisiológicamente aceptable.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, en la que el vehículo permite que se administre la composición por vía oral o por vía intravenosa.

7. Uso de al menos un péptido, seleccionado del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3 y cualquier análogo o mimético del mismo, en la fabricación de un medicamento para reducir las glucemias en un huésped, en el que los análogos o miméticos consisten en secuencias variantes de cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 3 que tienen hasta 3 sustituciones o deleciones, seleccionadas dichas sustituciones del grupo que consiste en sustituciones dentro del gran grupo hidrófobo: isoleucina, leucina, valina y fenilalanina; sustituciones entre serina y treonina; sustituciones entre glicina y alanina; sustituciones entre asparagina y glutamina; sustituciones entre ácido aspártico y ácido glutámico; o sustituciones entre lisina, arginina e histidina, y mediante lo cual las sustituciones o deleciones constituyen menos del 20% en número del número de aminoácidos.

8. Uso según la reivindicación 7, en el que las sustituciones o deleciones constituyen menos del 10% en número del número de aminoácidos.

9. Uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el al menos un péptido es un análogo o mimético que es una secuencia variante de cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 3 que consiste en al menos una sustitución dentro del grupo de residuos de valina, leucina, isoleucina y fenilalanina.

10. Uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el al menos un péptido es un análogo o mimético que es una secuencia variante de cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 3 que consiste en al menos una sustitución de un residuo de glicina por un residuo de alanina o un residuo de alanina por un residuo de glicina.

11. Uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el al menos un péptido es un análogo o mimético que es una secuencia variante de cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 3 que consiste en al menos una sustitución entre un residuo de treonina y un residuo de serina.

12. Uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el al menos un péptido es un análogo o mimético que es una secuencia variante de cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 3 que consiste en al menos una sustitución entre un residuo de asparagina y un residuo de glutamina.

13. Uso según la reivindicación 7 u 8, en el que el al menos un péptido es un análogo o mimético que es una secuencia variante de cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 3 que consiste en al menos una sustitución de residuos de histidina, lisina y arginina.

14. Uso según la reivindicación 7, en el que el al menos un péptido se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2 y SEQ ID NO. 3.

15. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 16, en el que el huésped padece un trastorno hiperglucémico.

16. Uso según la reivindicación 17, en el que el trastorno hiperglucémico es diabetes tipo I o tipo II.

17. Composición soluble en agua obtenida a partir de MC6 de *Momordica Charantia*, **caracterizada** porque migra como una única banda inferior a 10 kDa sobre SDS-PAGE al 20% que comprende tres péptidos, que muestra actividad hipoglucémica y que es activa mediante administración oral.

18. Composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de la composición soluble en agua según la reivindicación 19 en un vehículo fisiológicamente aceptable.

ES 2 310 006 T3

19. Composición farmacéutica según la reivindicación 20, en la que el vehículo fisiológicamente aceptable comprende agua desionizada o solución salina tamponada con fosfato.

5 20. Uso de la composición soluble en agua según la reivindicación 19 en la fabricación de un medicamento para reducir las glucemias en un huésped.

21. Uso según la reivindicación 22, en el que el huésped padece un trastorno hiperglucémico.

10 22. Uso según la reivindicación 23, en el que el trastorno hiperglucémico es diabetes del tipo I o del tipo II.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

1ª ETAPA DE
PURIFICACIÓN

2ª ETAPA DE
PURIFICACIÓN

3ª ETAPA DE
PURIFICACIÓN

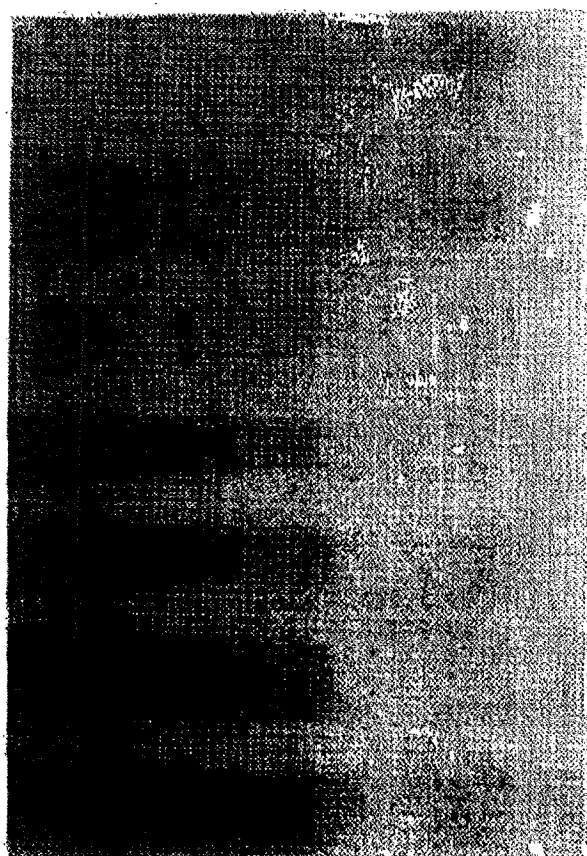


FIG.- 1A

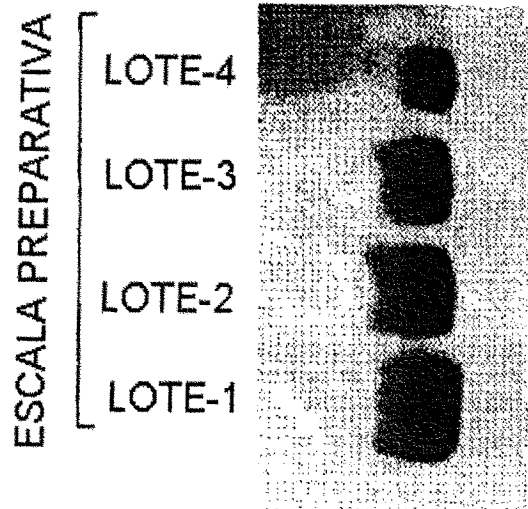


FIG.- 1B

CROMATOGRAMA 1 MEMORIZADO
AVISO NINGÚN PICO

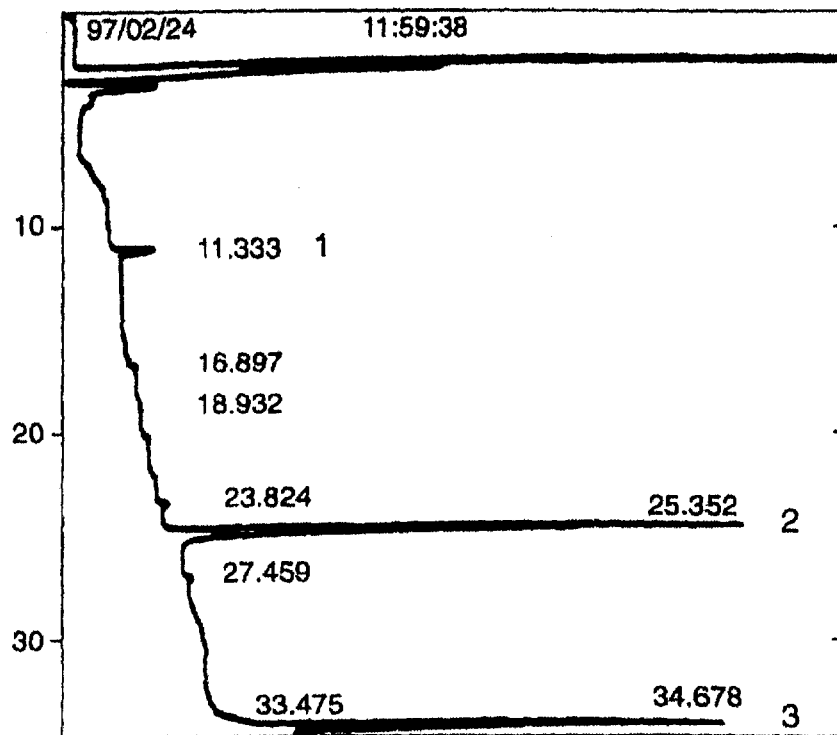
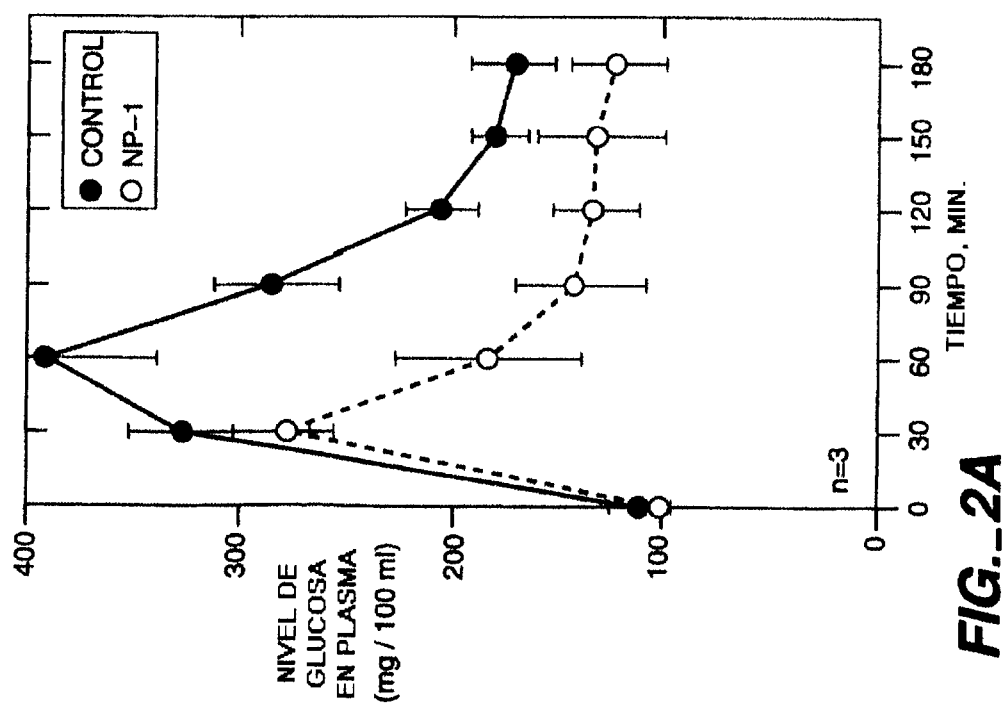
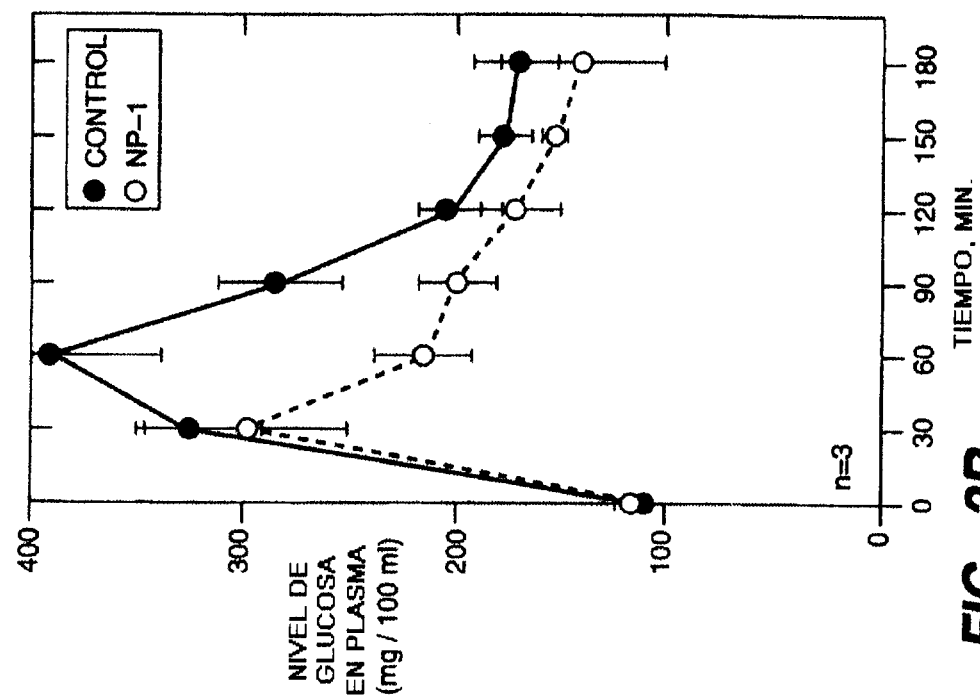
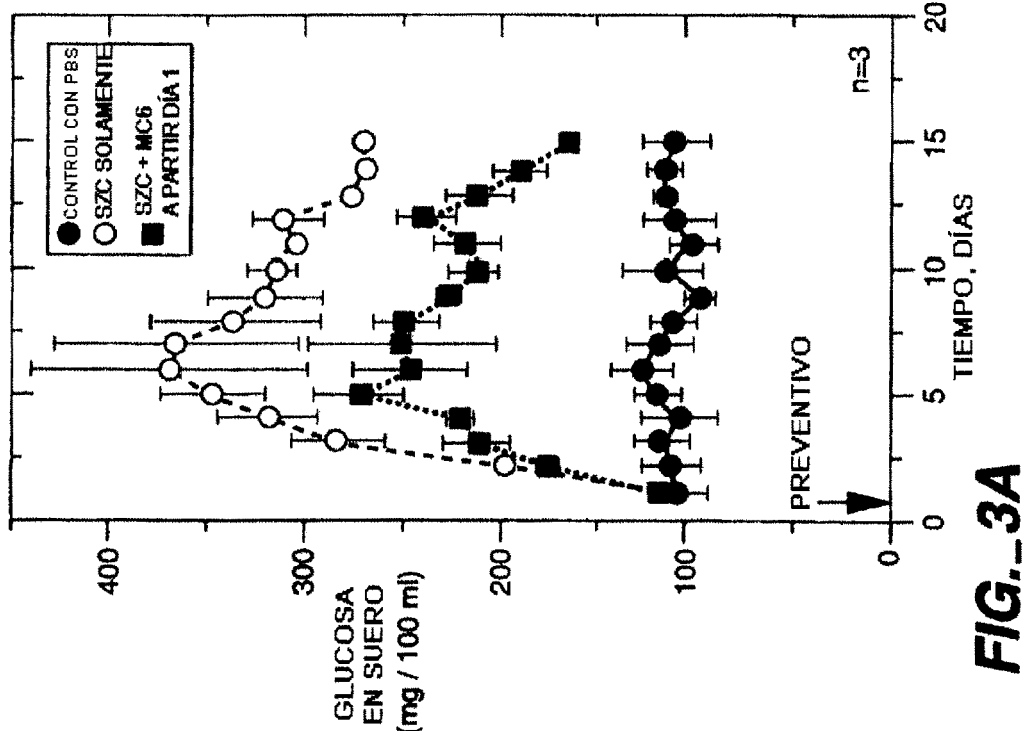
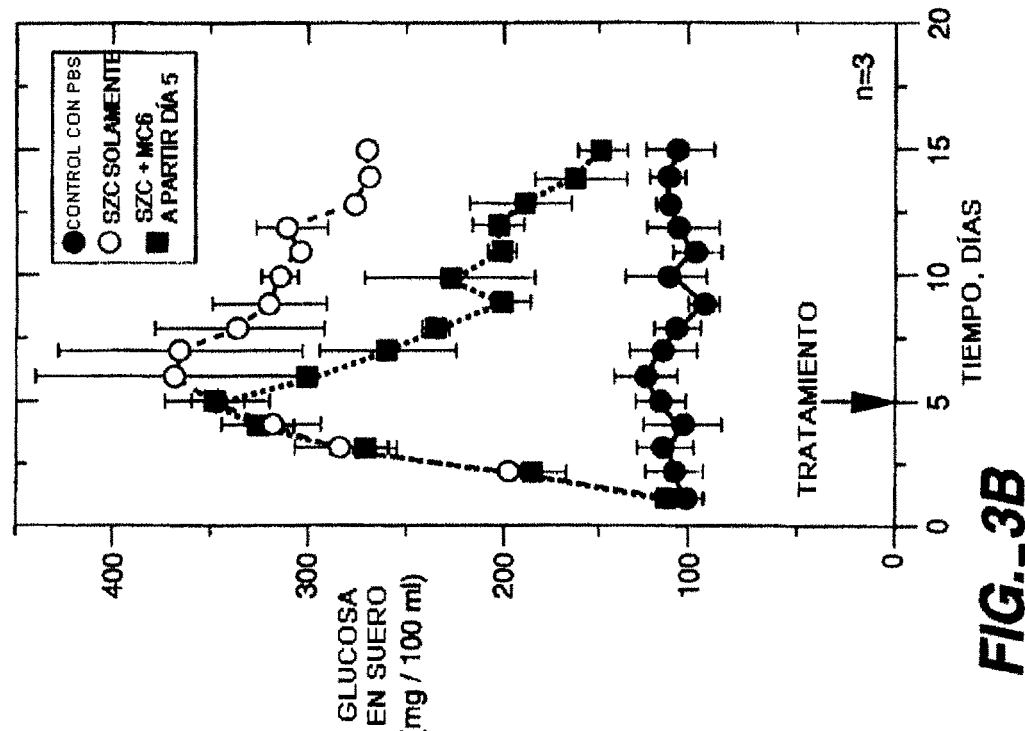
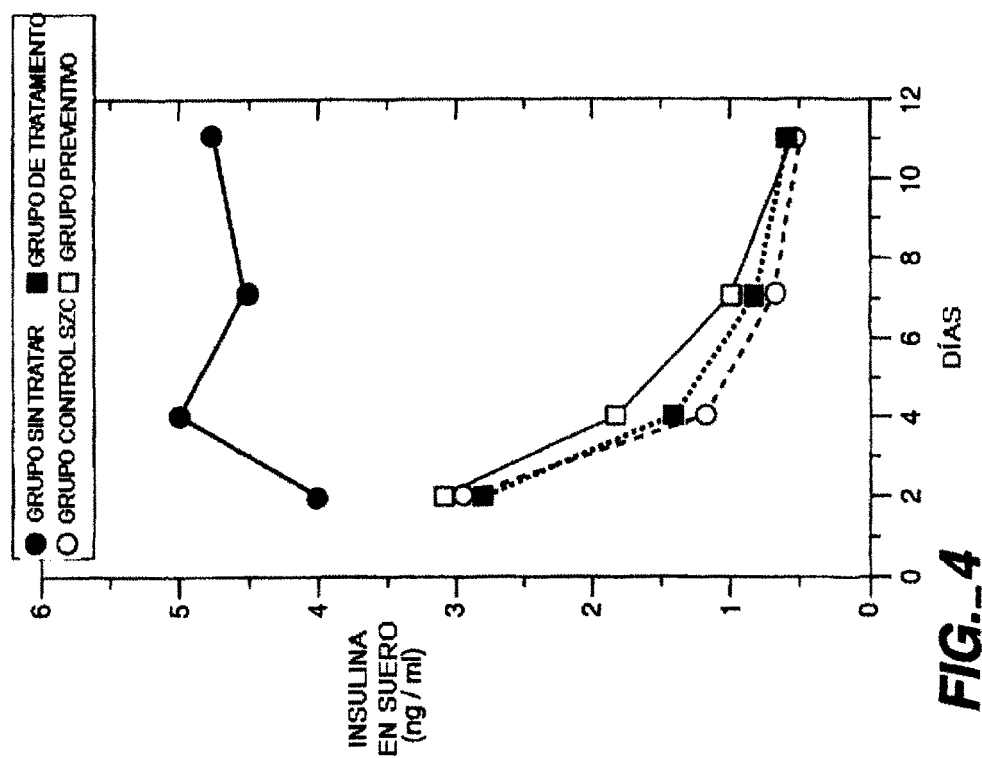
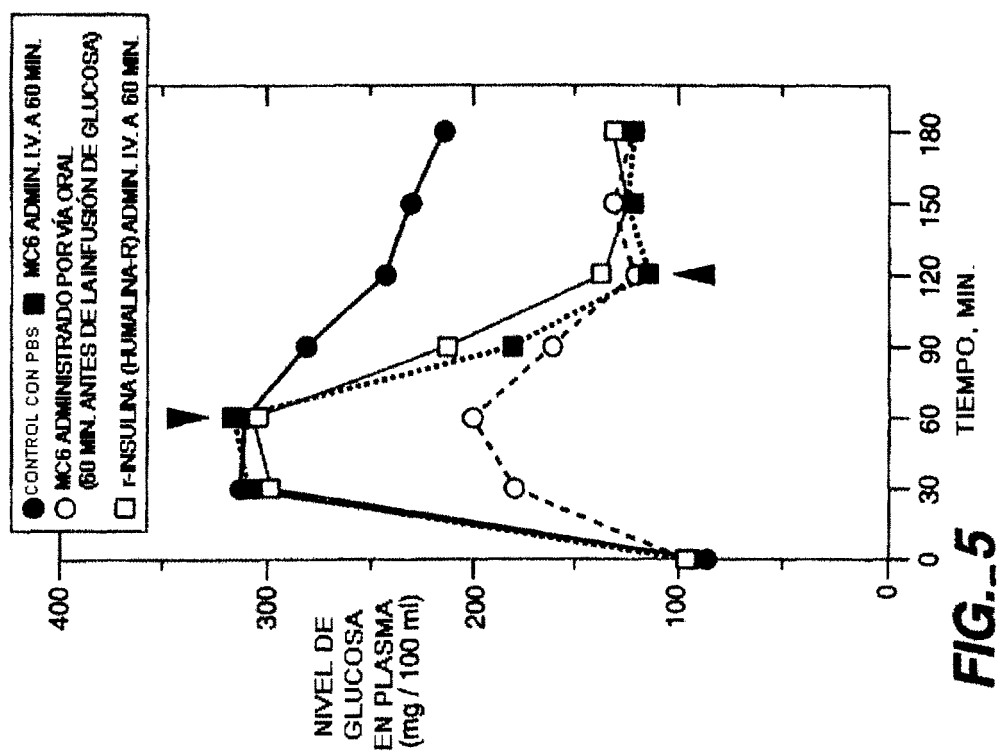
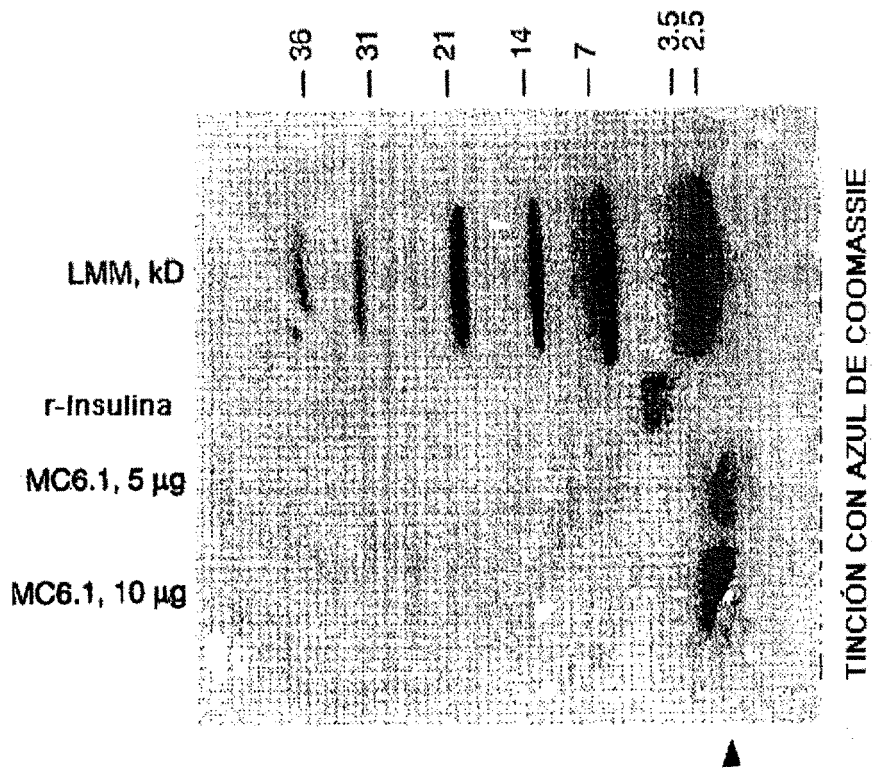
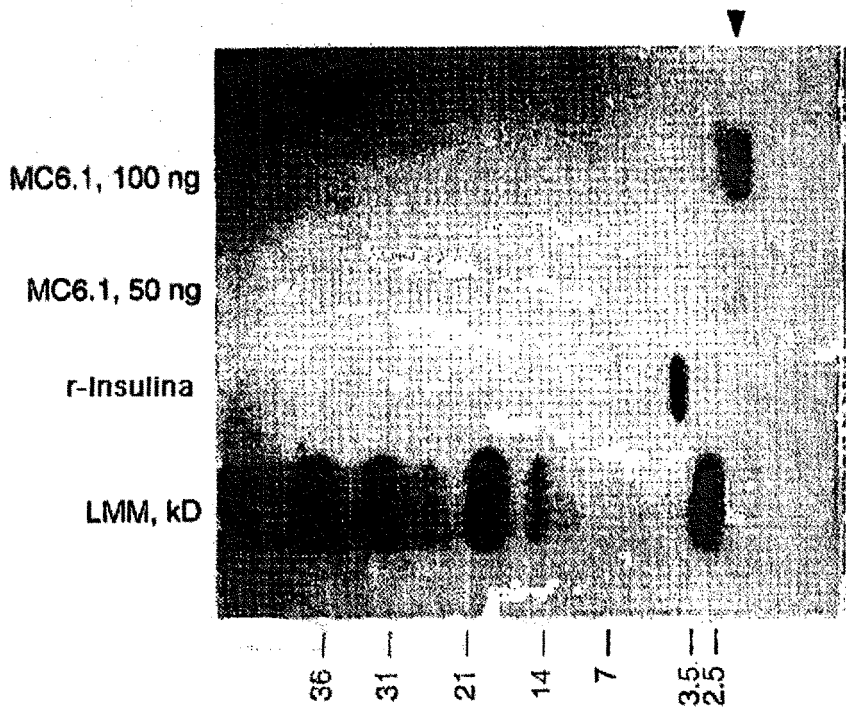


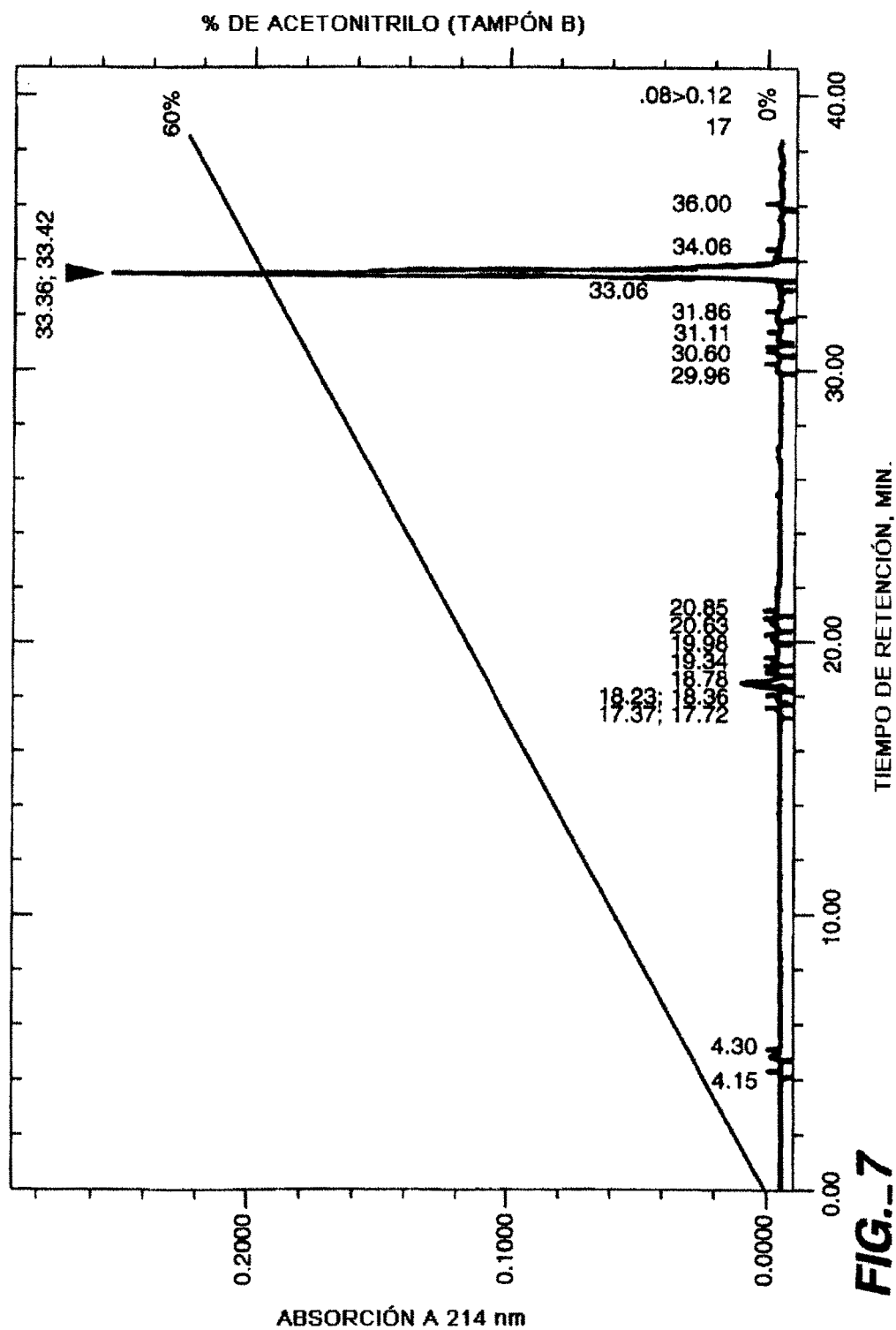
FIG._1C











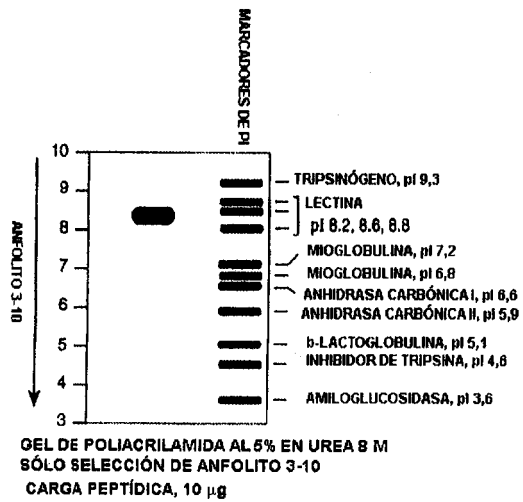
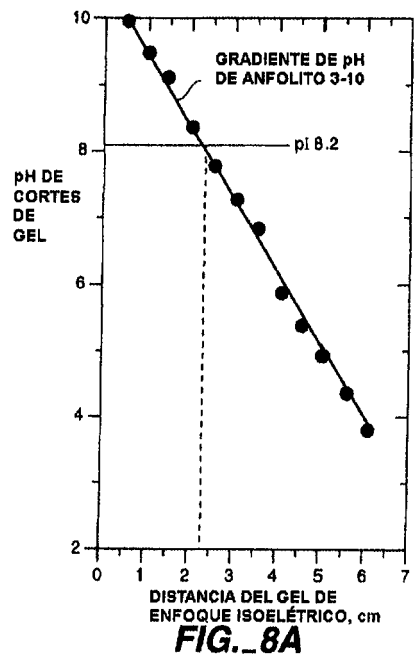
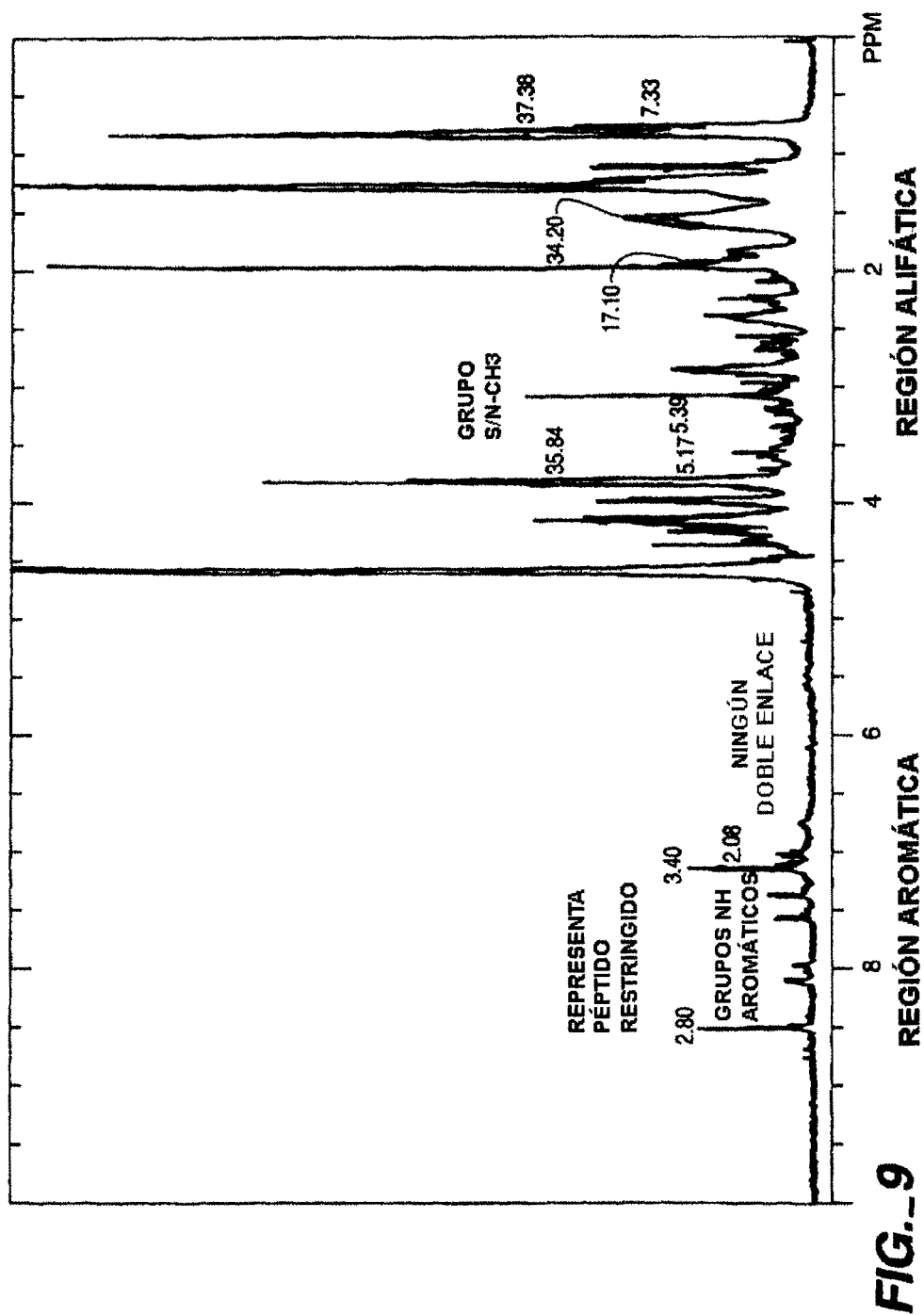


FIG._8B



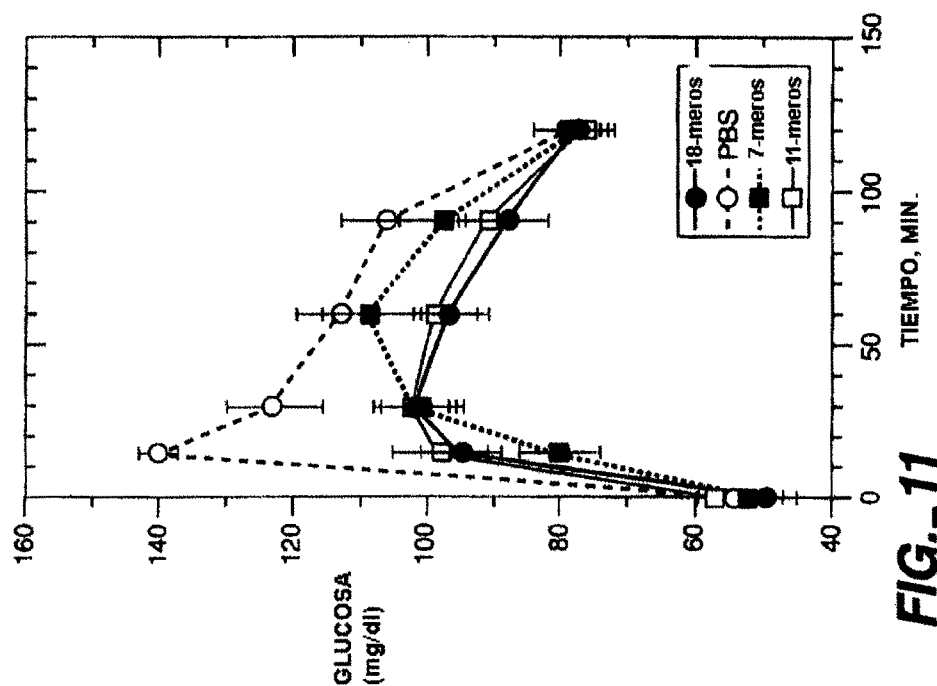


FIG._11

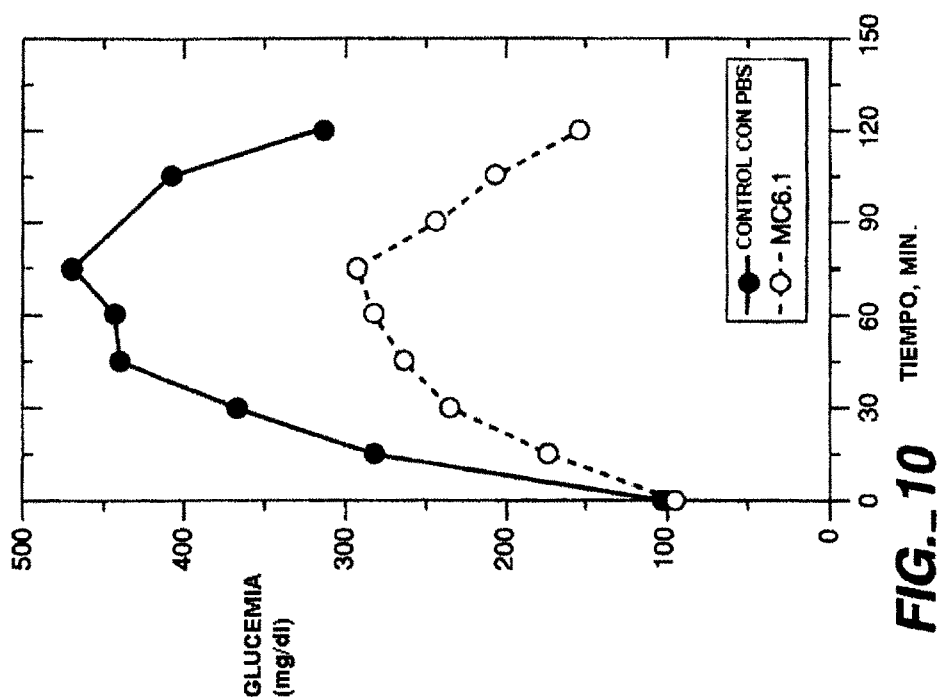


FIG._10

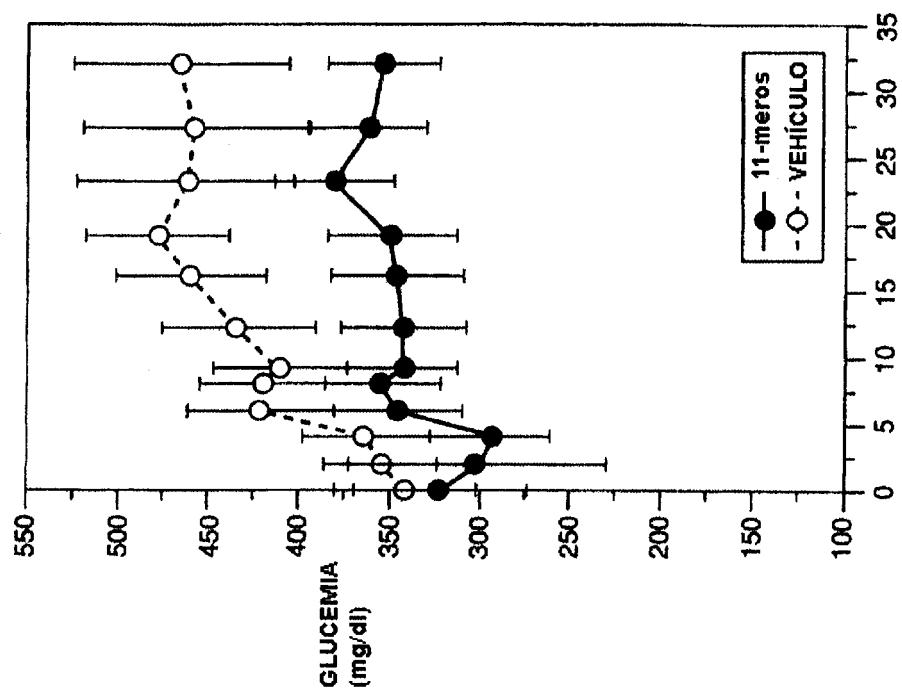


FIG._13 DÍAS DE TRATAMIENTO

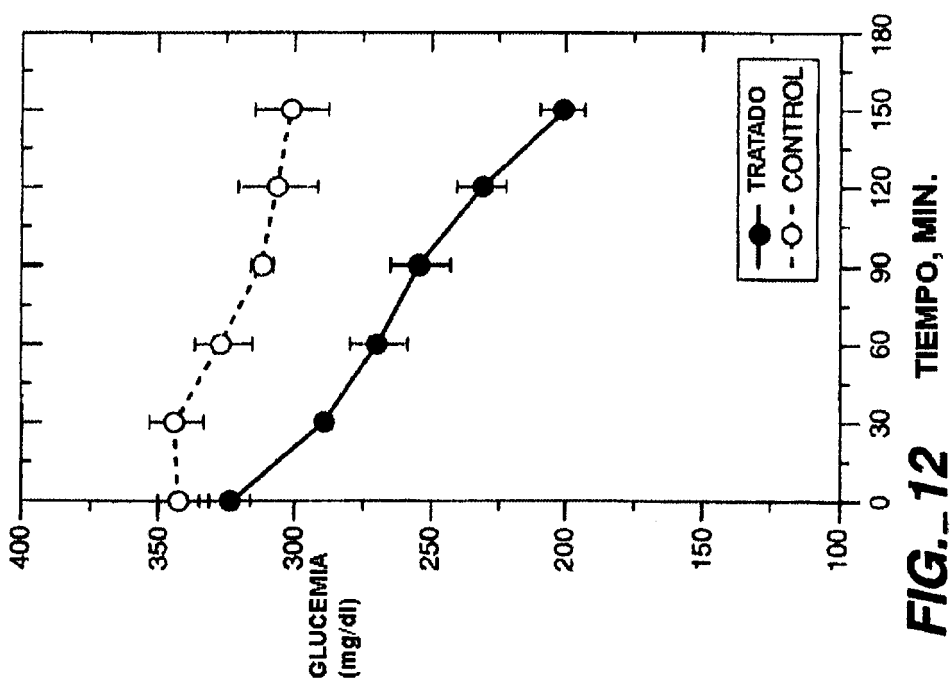


FIG._12 TIEMPO, MIN.

LISTA DE SECUENCIAS

(1) INFORMACIÓN GENERAL

- 5 (i) SOLICITANTE: Natpro, Inc.
- (ii) TÍTULO DE LA INVENCION: FRACCIÓN ACTIVA POR VÍA ORAL DE *MOMORDICA CHARANTIA*,
PÉPTIDOS ACTIVOS DE LA MISMA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE DIABETES
- 10 (iii) NÚMERO DE SECUENCIAS: 3
- (iv) DIRECCIÓN DE CORRESPONDENCIA:
- (A) DIRECCIÓN: Fish & Richardson, P.C.
- 15 (B) CALLE: 2200 Sand Hill Road, Suite 100
- (C) CIUDAD: Menlo Park
- (D) ESTADO: CA
- (E) PAÍS: EE.UU.
- 20 (F) CÓDIGO POSTAL: 94025
- (v) FORMA LEGIBLE POR ORDENADOR:
- (A) TIPO DE MEDIO: Disquete
- 25 (B) ORDENADOR: Compatible con IBM
- (C) SISTEMA OPERATIVO: DOS
- (D) SOFTWARE: FastSEQ para Windows Versión 2.0
- 30 (vi) DATOS DE LA SOLICITUD ACTUAL:
- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: Desconocido
- (B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 1 de abril de 1998
- 35 (C) CLASIFICACIÓN:
- (vii) DATOS DE LA SOLICITUD ANTERIOR:
- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: 08/850.855
- 40 (B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 02 DE MAYO DE 1997
- (A) NÚMERO DE SOLICITUD: 08/831.039
- (B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 01 DE ABRIL DE 1997
- (viii) INFORMACIÓN DEL REPRESENTANTE/AGENTE:
- 45 (A) NOMBRE: Suyat, Reginald J
- (B) NÚMERO DE REGISTRO: 28.172
- (C) NÚMERO DE REFERENCIA/EXPEDIENTE: 08948/006WO1
- 50 (ix) INFORMACIÓN DE TELECOMUNICACIONES:
- (A) TELÉFONO: 650-322-5070
- (B) FAX: 650-854-0875
- 55 (C) TELEX:

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 1:

- (i) CARACTERÍSTICAS DE SECUENCIA:
- 60 (A) LONGITUD: 18 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADENA: sencilla
- 65 (D) TOPOLOGÍA: lineal
- (xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 1:

ES 2 310 006 T3

Lys Thr Asn Met Lys His Met Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Val
1 5 10 15
Val Gly

5

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERÍSTICAS DE SECUENCIA:

10

(A) LONGITUD: 11 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

15

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 2:

20

Lys Thr Asn Met Lys His Met Ala Gly Ala Ala
1 5 10

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO:3:

(i) CARACTERÍSTICAS DE SECUENCIA:

25

(A) LONGITUD: 7 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

30

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(xi) DESCRIPCIÓN DE SECUENCIA: SEQ ID NO: 3:

35

Lys Thr Asn Met Lys His Met
1 5

40 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CALYX THERAPEUTICS, INC.

45

<120> FRACCIÓN ACTIVA POR VÍA ORAL DE *MOMORDICA CHARANTIA*, PÉPTIDOS ACTIVOS DE LA MISMA Y SU USO EN EL TRATAMIENTO DE DIABETES

<130> 121633-40128408

<140> EP 98914405.0

50

<141> 01-04-1998

<150> PCT/US98/06450

<151> 01-04-1998

<150> 08/831,039

55

<151> 01-04-1997

<150> 08/850,855

<151> 02-05-1997

60

<160> 3

<170> PatentIn Ver. 3.3

<210> 1

<211> 18

65

<212> PRT

<213> *Momordica Charantia*

ES 2 310 006 T3

 $\langle 400 \rangle$ 1

5 Lys Thr Asn Met Lys His Met Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Val
 1 5 10 15

Val Gly

 $\langle 210 \rangle$ 2
$$^{10} \quad \langle 211 \rangle \quad 11$$

<212> PRT

<213> *Momordica Charantia*

15 $\langle 400 \rangle$ 2

Lys Thr Asn Met Lys His Met Ala Gly Ala Ala
1 5 10

 $\langle 210 \rangle$ 3 $\langle 211 \rangle$ 7

<212> PRT

25 <213> *Momordica Charantia*

 $\langle 400 \rangle$ 3

30 Lys Thr Asn Met Lys His Met
 1 5

35

40

45

50

55

60

65