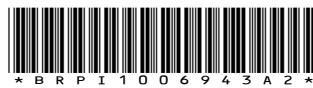




República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1006943-7 A2



(22) Data do Depósito: 22/01/2010

(43) Data da Publicação Nacional: 15/06/2021

**(54) Título:** PEPTÍDEO, COMPOSIÇÃO FARMACÉUTICA QUE COMPREENDE O PEPTÍDEO E MÉTODO PARA SUPRESSÃO DO APETITE, PREVENÇÃO OU TRATAMENTO DE UMA CONDIÇÃO DE SOBREPESO OU OBESIDADE, OU PARA TRATAR DIABETES

**(51) Int. Cl.:** C07K 14/585; A61K 38/00.

**(30) Prioridade Unionista:** 22/01/2009 US 61/205,750.

**(71) Depositante(es):** UNIGENE LABORATORIES INC..

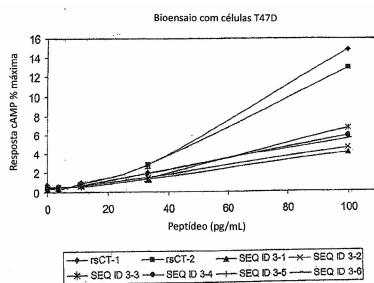
**(72) Inventor(es):** NOZER M. MEHTA; AMY STURMER; WILLIAM STERN; JAMES P. GILLIGAN.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2010021872 de 22/01/2010

**(87) Publicação PCT:** WO 2010/085700 de 29/07/2010

**(85) Data da Fase Nacional:** 22/07/2011

**(57) Resumo:** PEPTÍDEOS, COMPOSIÇÃO FARMACÉUTICA QUE COMPREENDE O PEPTÍDEO E USO DO MESMO. A presente invenção refere-se a peptídeos e composições farmacêuticas para a supressão do apetite e o controle de peso. Os peptídeos preferidos são análogos da calcitonina, preferivelmente com alterações de aminoácidos específicas para tornar o peptídeo mais similar à amilina.



Dois experimentos de bioensaio em réplica foram realizados para medição da resposta cAMP com células T47D. Todos os experimentos compararam três amostras da SEQ ID NO:3 com uma amostra de rsCT.

**Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "PEPTÍDEO,  
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE COMPREENDE O PEPTÍDEO E  
USO DO MESMO".**

**REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS**

5 Este pedido requer a prioridade do pedido provisório de número de série US 61/205.750, protocolado em 22 de janeiro de 2009 por M. Mehta et al. intitulado TREATMENT FOR OBESITY, cuja descrição está aqui incorporada por referência.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

10 **Campo da Invenção**

A presente invenção refere-se a peptídeos (e composições farmacêuticas que os contenham) para a supressão do apetite e seu uso no tratamento e/ou na prevenção de condições de sobrepeso ou obesidade em animais de sangue quente suscetíveis, incluindo humanos. Em particular, a 15 invenção se refere a certos análogos da calcitonina.

**Antecedentes da Técnica Relacionada**

A condição de sobrepeso ou obesidade é um fator de risco amplamente conhecido para muitas doenças, tais como doenças cardiovasculares, hipertensão e diabetes. Além disso, a aparência pessoal tem um papel 20 importante no bem-estar geral de muitas pessoas. Uma condição de sobrepeso pode também reduzir ou limitar a capacidade de um indivíduo de participar de atividades físicas desejadas.

Os programas comuns de tratamento e prevenção incluem várias dietas (incluindo dietas de restrição de alimentos), programas de perda 25 de peso e exercícios, que proporcionam graus variáveis de sucesso que não se provaram adequados para muitas pessoas. Diversas composições farmacêuticas foram tentadas na técnica anterior, às vezes com efeitos colaterais indesejáveis significativos.

A redução desejada da ingestão de alimentos é dificultada pelo 30 natural aumento do apetite que frequentemente acompanha a redução da ingestão de alimentos. Isso resulta em uma significativa nãoconformidade dos pacientes com regimes que envolvem a redução da ingestão de alimentos. Assim, há necessidade na técnica de supressores do apetite seguros e

eficazes.

Sabe-se que as calcitoninas suprimem o apetite, mas também são poderosos agentes contrários à reabsorção óssea. Seu uso como supressores do apetite é, assim, limitado devido ao seu efeito sobre os ossos,  
5 o que não seria desejável para uso mais geral em regimes de controle do peso.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É, de acordo com tudo isso, um objetivo da presente invenção é proporcionar análogos da calcitonina que retenham atividade significativa de supressão do apetite, mas sejam agentes menos potentes no que se refere à reabsorção óssea do que a calcitonina.  
10

É outro objetivo da invenção proporcionar novos peptídeos (e composições farmacêuticas contendo os mesmos) para uso como supressores do apetite.

15 É outro objetivo da invenção proporcionar métodos de supressão do apetite.

É outro objetivo da invenção proporcionar métodos de tratamento e/ou prevenção de uma condição de sobrepeso e/ou obesidade.

Em uma modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo cuja sequência de aminoácidos tem pelo menos 84 por cento de identidade com a sequência de aminoácidos da calcitonina do salmão ou da enguia, sendo que pelo menos um resíduo de aminoácido de tal peptídeo é diferente dos resíduos de aminoácido da calcitonina do salmão e da enguia e é idêntica ao resíduo de aminoácido correspondente da amilina humana.  
20

25 Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo cuja sequência de aminoácidos é pelo menos 93 por cento idêntica à SEQ ID NO:1, sendo que tal peptídeo não é a calcitonina da enguia ou do salmão nem a amilina humana.

30 Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo cuja sequência de aminoácidos é pelo menos 93 por cento idêntica à SEQ ID NO:2, sendo que tal peptídeo não é a calcitonina da enguia ou do salmão nem a amilina humana.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:1, na qual

- (i) o resíduo 26 pode ser asparagina ou ácido aspártico,
- 5 (ii) o resíduo 29 pode ser serina ou alanina e
- (iii) ou o resíduo 30 não é glicina ou o resíduo 32 não é prolina,

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:3.

- 10 Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 4.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:2 na qual:

- (i) O resíduo 25 pode ser asparagina ou ácido aspártico,
- 15 (ii) O resíduo 28 pode ser serina ou alanina e
- (iii) O resíduo 29 não é glicina ou o resíduo 31 não é prolina.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 3, exce-  
to pelo fato de a leucina da posição 16 ser omitida (resultando assim na SEQ

20 ID NO:5)

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:4, exce-  
to pelo fato de a leucina da posição 16 ser omitida (resultando assim na SEQ  
ID NO:6).

- 25 Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:7.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:8.

- 30 Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:12.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:13.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um peptídeo com a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:14.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo qualquer um dos peptídeos da invenção aqui descrita junto com um excipiente, diluente ou veículo farmacologicamente aceitável.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um método de tratamento ou prevenção de uma condição de sobrepeso ou obesidade compreendendo a administração a um paciente em necessidade de tal prevenção ou tratamento de uma quantidade de qualquer um dos peptídeos da invenção aqui descrita (ou uma composição farmacêutica dos mesmos) eficaz para suprimir o apetite.

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um método de supressão do apetite compreendendo a administração a um paciente em necessidade de tal supressor, uma quantidade eficaz de qualquer um dos peptídeos da invenção aqui descrita (ou uma composição farmacêutica dos mesmos).

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um método de tratamento da diabetes compreendendo a administração a um paciente em necessidade de tal tratamento uma quantidade terapeuticamente eficaz de qualquer um dos peptídeos da invenção aqui descrita (ou uma composição farmacêutica do mesmo).

Em outra modalidade, a presente invenção proporciona um método de tratamento da diabetes compreendendo a administração a um paciente em necessidade de tal tratamento uma quantidade terapeuticamente eficaz de qualquer um dos peptídeos da invenção aqui descrita (ou uma composição farmacêutica do mesmo).

Há diversas medidas reconhecidas na técnica de pesos corporais dentro da faixa normal em vista de diversos fatores, tais como sexo, idade e altura. Um paciente em necessidade de regimes de tratamento ou prevenção aqui apresentados inclui pacientes cujo peso corporal excede normas reconhecidas ou que, devido à hereditariedade, fatores ambientais ou

outro fator de risco reconhecido, têm maior risco do que a população geral de desenvolver sobre peso ou se tornar obeso. De acordo com a invenção, é contemplado que a invenção possa ser usada para tratar diabetes quando o controle do peso for um aspecto do tratamento.

5           Como aqui utilizado, "percentual de identidade" se refere a uma sequência de aminoácidos sem atenção a se um dado aminoácido é modificado com um substituto adicional (que não seja um aminoácido adicional). Por exemplo, a cisteína é considerada idêntica à acetilcisteína para este objetivo. Da mesma forma, para este objetivo, uma cisteína que tenha formado 10 uma ponte dissulfeto com outra cisteína seria considerada idêntica a uma cisteína que não formou tal ponte. O "percentual de identidade" também contempla diferenças no tamanho dos peptídeos. Por exemplo, um peptídeo de 34 resíduos que é de resto idêntico a um peptídeo de 33 resíduos (exceto pelo seu aminoácido adicional) é considerado aqui 97 por cento idêntico ao 15 peptídeo de 33 resíduos.

Como aqueles versados na técnica apreciarão, peptídeos com uma pluralidade de resíduos de cisteína frequentemente formam pontes dissulfeto entre dois desses resíduos de cisteína. Todos esses peptídeos aqui apresentados são definidos como opcionalmente incluindo uma ou mais pontes dissulfeto.

Os peptídeos conhecidos na técnica como davalintide e pramlintide são excluídos do escopo da invenção.

Exceto quando informado de outra forma, a dosagem preferida dos compostos ativos da invenção é idêntica tanto para fins terapêuticos 25 quanto para fins profiláticos. As dosagens desejáveis são discutidas com maior detalhe abaixo e diferem dependendo do modo de administração. Excepto quando informado de outra maneira ou quando aparente a partir do contexto, as dosagens aqui se referem ao peso dos componentes ativos não afetados por excipientes farmacêuticos, diluentes, veículos ou outros ingredientes, ainda que seja desejável que tais ingredientes adicionais sejam incluídos, como mostrados nos exemplos aqui contidos. Qualquer forma de 30 administração (cápsula, comprimido, injeção ou afins) comumente usada na

indústria farmacêutica para administração de um peptídeo ativo é apropriada para uso aqui e os termos "excipiente", "diluente" e "veículo" incluem ingredientes não ativos normalmente incluídos, junto com ingredientes ativos em tal forma de administração do setor. Uma forma de administração oral preferida é discutida com maior detalhe abaixo, mas não deverá ser considerada o modo exclusivo de administração dos agentes ativos da invenção.

Outras características e vantagens da presente invenção se tornarão aparentes da descrição não limitadora a seguir de certas modalidades preferidas, que se referem às gravuras que as acompanham.

#### 10 BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A figura 1 é um gráfico que ilustra dados de um bioensaio comparando a resposta cAMP para um peptídeo da invenção, SEQ ID NO:3, em comparação com a calcitonina recombinante do salmão.

15 A figura 2 é um gráfico que ilustra o efeito sobre o consumo de alimento proporcionado pela SEQ ID NO:3 em comparação com um placebo e dois conhecidos supressores do apetite em um estudo com cães Beagle.

A figura 3 é um gráfico ilustrando o efeito sobre o peso proporcionado pela SEQ ID NO:3 em comparação com um placebo e dois supressores do apetite conhecidos em um estudo com cães Beagle.

20 A figura 4 é um gráfico ilustrando as propriedades similares às da calcitonina de três peptídeos da invenção em comparação com a calcitonina do salmão em um estudo que mediou a ligação a receptores da calcitonina em células T47D. Os três peptídeos da invenção são UGP269 (SEQ ID NO:12), UGP 271 (SEQ ID NO:13) e UGP281 (SEQ ID NO:14).

25 A figura 5 é um gráfico ilustrando a alteração relativa de peso de ratos injetados diariamente com a mesma dose de placebo, UGP269 (SEQ ID NO:12) ou UGP 271(SEQ ID NO:13) a 7 e 14 dias após o começo do regime de injeções.

30 A figura 6 é um gráfico que ilustra a alteração relativa de peso de ratos injetados diariamente com a mesma dose de placebo, calcitonina do salmão, UGP 271(SEQ ID NO:13) ou UGP 281(SEQ ID NO:14) a 7 e 14 dias após o começo do regime de injeções.

DESCRÍÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES PREFERIDAS DA INVENÇÃO

Os peptídeos preferidos da invenção têm identidade de aminoácidos significativa com a calcitonina do salmão ou da enguia. Preferivelmente há pelo menos 84% de identidade e em algumas modalidades até 87%, 90%, 93% ou 96% de identidade com a calcitonina do salmão ou da enguia. Preferivelmente, pelo menos um aminoácido é modificado, com relação tanto à calcitonina do salmão quanto à da enguia, com o objetivo de diminuir o efeito de um peptídeo da invenção sobre os ossos (com relação ao efeito da calcitonina do salmão ou da enguia sobre os ossos).

Em algumas modalidades, a leucina da posição 16 da calcitonina do salmão e da enguia é deletada, de maneira que resulte um peptídeo com 31 aminoácidos. Espera-se que a deleção tenha a probabilidade de ter o efeito desejável de diminuir a capacidade do peptídeo resultante de se ligar ao rim, e osteoclastos em relação à calcitonina natural do salmão ou da enguia.

Os peptídeos da invenção podem existir em forma ácida livre, mas prefere-se que o aminoácido C-terminal seja amidado. Os autores do pedido esperam que tal amidação possa contribuir para a eficácia e/ou biodisponibilidade do peptídeo.

Em modalidades preferidas, os peptídeos da invenção, quer incluam ou não a leucina da posição 16 da calcitonina do salmão ou da enguia, podem ter de 1 a 5 posições nas quais os aminoácidos diferem do aminoácido correspondente da calcitonina tanto do salmão quanto da enguia. Como aqui utilizada, a frase "aminoácido correspondente da calcitonina do salmão ou da enguia" significa o resíduo de aminoácido da calcitonina do salmão ou da enguia com o mesmo número de posição de aminoácido (com relação à sua terminação amino) que aqui discutidos no caso dos peptídeos da invenção para os quais a expressão é usada, EXCETO quando a frase for usada em modalidades nas quais a leucina da posição 16 seja deletada, caso no qual o número de aminoácido "correspondente" da calcitonina do salmão ou da enguia será uma posição maior do que qualquer número de

posição acima de 15 do peptídeo da invenção.

As posições preferidas nas quais o peptídeo da invenção difere da calcitonina tanto do salmão quanto da enguia são, por exemplo, as posições 8, 11, 27, 30 e 32. Em um peptídeo da invenção no qual a leucina da 5 posição 16 foi deletada, em relação à calcitonina natural do salmão ou da enguia, as posições de mudança preferidas acima são as posições 8, 11, 26, 29 e/ou 31 (correspondentes às posições 8, 11, 27, 30 e/ou 32 da calcitonina natural do salmão ou da enguia). Acredita-se que alterações de uma ou mais dessas posições preferidas, ou de qualquer outra posição, diminuem o efeito 10 que o peptídeo de outra forma teria sobre os ossos, efeito indesejável em conexão com a supressão do apetite e/ou com o tratamento de condições de sobrepeso ou obesidade.

Sem desejar ser limitado pela teoria, acredita-se que a supressão do apetite proporcionada pelo peptídeo da invenção seja mediada pela 15 ligação dos peptídeos da invenção ao receptor da amilina. Assim, em modalidades preferidas, deseja-se que os peptídeos da invenção sejam super-agonistas do receptor da amilina ao mesmo tempo em que apresentam menor ligação ao receptor da calcitonina. Em modalidades preferidas, as posições nas quais os peptídeos da invenção diferem das posições correspondentes 20 da calcitonina do salmão e/ou da enguia utilizam preferivelmente o aminoácido correspondente da amilina humana na posição em questão. A frase "aminoácido correspondente da amilina humana", como aqui utilizado, significa o número do aminoácido da amilina humana que é o mesmo que o número do aminoácido do peptídeo da invenção em discussão, EXCETO quando o 25 número do resíduo de aminoácido do peptídeo da invenção em discussão for maior do que 24, caso no qual o resíduo de aminoácido "correspondente" da amilina humana será maior em 5 do que o número do aminoácido do peptídeo da invenção. Por exemplo, o aminoácido 24 da invenção corresponde ao aminoácido 24 da amilina humana, enquanto o aminoácido 25 da invenção 30 corresponde ao aminoácido de número 30 da amilina humana. Em modalidades da invenção nas quais a leucina da posição 16 é omitida, os números correspondentes entre a amilina da invenção e a amilina humana são

idênticos para os primeiros 15 resíduos, diferem em um no caso dos resíduos 16-23 (correspondendo aos resíduos 17-24 da amilina humana) e diferem em seis começando com o resíduo 24 do peptídeo da invenção (que corresponde ao resíduo 30 da amilina humana).

5 Um peptídeo da invenção, o peptídeo da SEQ ID NO:3, tem asparagina na posição 30 e tirosina na posição 32 (correspondendo à asparagina na posição 35 e à tirosina na posição 37 da amilina) em vez dos resíduos de aminoácidos que a calcitonina da enguia ou do salmão tem nas posições 30 e 32. O peptídeo preferido da SEQ ID NO:3 tem de resto a mesma sequência de aminoácidos que a calcitonina do salmão em todas as posições que não as posições 30 e 32, nas quais o peptídeo foi tornado mais semelhante à amilina. De acordo com outra preferência da invenção, a SEQ ID NO:3 é amidada na tirosina da posição 32.

10 O pramlintide, comercialmente disponível sob a marca registrada SYMLIN, é um análogo da amilina que difere desta em maneiras que resistem à formação de agregados (o que pode ser um problema no caso da amilina). De acordo com isso, a presente invenção contempla que o pramlintide poderia ser utilizado da mesma maneira que a amilina é aqui utilizada. Da mesma maneira, a elcatonina (um análogo da calcitonina da enguia) poderia 15 ser utilizada da mesma maneira que a calcitonina da enguia é aqui utilizada.

20 Outro peptídeo da invenção é apresentado na SEQ ID NO:4 que é similar à SEQ ID NO:3, exceto pelo fato de ele conter valina na posição 27. A valina na posição 27 torna a SEQ ID NO:4 mais similar à amilina (isto é, corresponde à valina na posição 32 da amilina humana). A valina na posição 25 27 também faz a SEQ ID NO:4 se parecer mais com a calcitonina da enguia (em contraste com a calcitonina do salmão), dado que a calcitonina da enguia também apresenta valina na posição 27.

Em outra modalidade, um peptídeo da invenção pode ser idêntico à SEQ ID NO:3 e à SEQ ID NO:4 mas faltar a ele a leucina na posição 30 16.

Em outra modalidade, um peptídeo da invenção pode ter a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO:7 ou na SEQ ID NO:8.

Para facilitar a comparação, as sequências de aminoácidos da calcitonina natural do salmão e da enguia são apresentadas como SEQ ID NO:9 e SEQ ID NO:10, respectivamente. A sequência de aminoácidos da amilina humana está apresentada na SEQ ID NO:11.

5 Em algumas modalidades, o lado N-terminal dos peptídeos discutidos acima é modificado para reduzir a carga positiva do primeiro aminoácido. Por exemplo, um grupo acetila ou propionila pode ser substituído na cisteína da posição 1. Como ilustrado na figura 6, o aumento da eficácia é obtido por tal substituição de acetila. Maneiras alternativas de reduzir a carga positiva incluem, entre outras, peguilização baseada em polietilenoglicol, ou a adição de outro aminoácido, tal com ácido glutâmico ou ácido aspártico na porção N-terminal. Alternativamente, a adição de outros aminoácidos à porção N-terminal dos peptídeos discutidos acima pode reduzir de maneira desejável a transdução de sinais pelo receptor da calcitonina. Tais aminoácidos adicionais incluem, entre outros, lisina, glicina, formilglicina, leucina, alanina, acetilalanina e dialanila.

10

15

Em algumas modalidades, os peptídeos discutidos acima podem ser adicionalmente modificados substituindo-se, para um dado resíduo de aminoácido, o aminoácido correspondente da amilina humana.

20 Acredita-se que a produção recombinante dos peptídeos da invenção seja mais eficaz em termos de custo-benefício do que outras técnicas conhecidas na área, ainda que essas outras técnicas também possam ser usadas. Preferivelmente, os peptídeos da invenção são amidados na sua porção C-terminal, ainda que formas ácidas livres também sejam contempladas. Uma técnica preferida para a fabricação de versões amidadas dos peptídeos da invenção é reagir precursores (com glicina no lugar do grupo amino C-terminal do produto amidado desejado) na presença de peptidilglicina mono-oxigenase de alfa-amidação de acordo com técnicas conhecidas nas quais os precursores são convertidos em produtos amidados nas reações descritas, por exemplo, na patente US 4.708.934 e nas publicações europeias de patentes de n<sup>os</sup>. 0 308 067 e 0 382 403. A produção recombinante é preferida tanto para o precursor quanto para a enzima que catalisa a

25

30

conversão do precursor em calcitonina do salmão. Essa produção recombinante é discutida em Biotechnology, Vol. 11 (1993) pp. 64-70, que descreve com maior detalhe a conversão de um precursor em um produto amidado. O produto recombinante lá relatado é idêntico à calcitonina natural do salmão e à calcitonina do salmão produzida usando-se síntese química de peptídeos em solução e em fase sólida. A produção de produtos amidados pode também ser realizada usando-se o processo e a enzima de amidação apresentadas por Consalvo, et al na publicação de patente US 2006/0127995; Miller et al, publicação de pedido de patente US 2006/0292672; Ray et al, 2002, Protein Expression and Purification, 26:249-259; e Mehta, 2004, Biopharm. International, julho, pp. 44-46.

A produção dos peptídeos amidados preferidos pode acontecer, por exemplo, produzindo-se precursores com extensão glicina em E. coli como uma proteína de fusão solúvel com glutationaS-transferase ou por expressão direta no precursor de acordo com a técnica descrita na patente US 6.103.495. Um tal precursor com extensão glicina tem uma estrutura molecular idêntica à do produto amidado desejado, exceto na porção C-terminal (na qual o produto termina em -X-NH<sub>2</sub>, enquanto o precursor termina em -X-gly, sendo X o resíduo de aminoácido C-terminal do produto). Uma enzima de alfa-amidação descrita nas publicações acima catalisa a conversão dos precursores do produto. A enzima é preferivelmente produzida, por exemplo, de maneira recombinante em células do ovário do hamster chinês (CHO), como descrito nos artigos de biotecnologia e biofarmacologia citados acima.

Formas ácidas livres dos peptídeos ativos da invenção podem ser produzidas de maneira similar, mas sem incluir uma glicina C-terminal no "precursor", que é em vez disso o produto final e não exige etapa de amidação.

#### Tratamento de Pacientes

Prefere-se que os peptídeos da invenção sejam administrados a dosagens adequadas para manter os níveis séricos do peptídeo nos pacientes entre 5 e 500 picogramas por mililitro, preferivelmente entre 10 e 250 picogramas por mililitro. Os níveis séricos podem ser medidos por técnicas

de ensaio radioimune conhecidas na técnica. O médico responsável pelo atendimento pode monitorar a resposta do paciente e então alterar a dosagem conforme o metabolismo e a resposta individual do paciente.

Outros métodos de administração podem ser usados, mas o peptídeo da invenção é preferivelmente formulado para administração oral de uma maneira conhecida na técnica como, por exemplo, apresentado na patente US 6.086.018 ou na publicação de patente US 2009/0317462. Uma forma de administração oral preferida de acordo com a invenção é apresentada na tabela 1, abaixo:

10 **TABELA 1**

**COMPONENTES DA FORMULAÇÃO DE ADMINISTRAÇÃO SÓLIDA**

AGENTE ATIVO OU EXCIPIENTE	FUNÇÃO
Peptídeo da SEQ ID NO:3	Agente ativo para a supressão do apetite
Ácido cítrico revestido	Inibidor da protease
Lauroilcarnitina	Promotor da absorção
Polímero não iônico	Sub-revestimento
Eudragit L30D-55	Revestimento entérico

Espera-se que a biodisponibilidade obtênia em uma forma de administração oral deste tipo seja adequada para se alcançar os níveis sanguíneos preferidos acima usando-se somente 100-2000 microgramas do peptídeo ativo (neste exemplo, SEQ ID NO:3) por forma de administração, preferivelmente 200-800 microgramas. Quando formulações orais deste tipo e concentrações do ingrediente ativo forem usadas, dosagens entre 200 e 4000 microgramas por dia de peptídeo ativo (independente do peso de todos os outros ingredientes) e preferivelmente entre 400 e 1600 microgramas por dia, os níveis sanguíneos desejados provavelmente serão alcançados.

Essas quantidades podem ser proporcionadas seja em uma administração diária ou em múltiplas administrações. Independente do agente ativo administrado, prefere-se que uma única forma de administração (por exemplo, uma única cápsula ou comprimido) seja usada em cada administração, já que um único comprimido ou cápsula proporciona melhor liberação

simultânea do peptídeo ativo, agente redutor do pH e promotores da absorção. Isso é altamente desejável porque o ácido é mais capaz de reduzir o ataque proteolítico indesejável sobre o peptídeo ativo quando o ácido é liberado em proximidade temporal do agente ativo.

5           A liberação quase simultânea é melhor obtida administrando-se todos os componentes da invenção como uma única cápsula ou comprimido. Contudo, a invenção também inclui, por exemplo, a divisão da quantidade necessária do ingrediente ativo entre dois ou mais comprimidos ou cápsulas que podem ser administradas juntas, de maneira que elas proporcionem, 10 juntas, a quantidade necessária de todos os ingredientes. "Composição farmacêutica", como aqui utilizado, inclui, entre outras coisas, uma dosagem completa apropriada para uma administração particular a um paciente independente de um ou mais comprimidos ou cápsulas (ou outras formas de administração) sejam recomendadas em uma dada administração.

15           Os peptídeos de acordo com a invenção podem também ser administrados por outras técnicas comuns no setor, com variações normais da dosagem variando de acordo com os modos de administração. Por exemplo, uma faixa de dosagem entre 5 e 100 microgramas por dia (preferivelmente entre 10 e 50 microgramas por dia e mais preferivelmente entre 15 20 e 35 microgramas por dia) é preferida quando administrada por injeção.

Em uma composição farmacêutica para injeção, o peptídeo ativo da invenção está preferivelmente presente em uma concentração entre 10 microgramas/mL e 100 microgramas/mL.

Sem se querer limitar-se pela teoria, acredita-se que o mecanismo de ação envolva a leptina. Em algumas modalidades, a leptina pode ser adicionada à composição farmacêutica da invenção ou proporcionada separadamente.

#### DADOS DE EFICÁCIA

Para testar se as substituições de aminoácidos da invenção 30 converteram a calcitonina do salmão em um análogo com menor afinidade de ligação ao receptor da calcitonina (ou de outra maneira menos capaz de ativar de maneira indesejável os receptores de calcitonina), o peptídeo cuja

sequência de aminoácidos está apresentada na SEQ ID NO: 3 foi submetido a um bioensaio de comparação da sua resposta cAMP (um indicador da ativação do receptor de calcitonina) à da calcitonina do salmão. Como mostrado na figura 1, os dados sugerem que um análogo da calcitonina da invenção (SEQ ID NO: 3) é, de maneira desejável, menos potente ao se ligar ao receptor da calcitonina do que a calcitonina natural do salmão.

O efeito do peptídeo da (SEQ ID NO: 3) sobre a ingestão de alimentos foi investigada em um estudo cruzado controlado por placebo com cães Beagle. O peptídeo da SEQ ID NO: 3, assim como calcitoninas do salmão (sCT) e PYY(3- 36)NH<sub>2</sub> foram formulados em cápsulas com revestimento entérico para administração oral. As cápsulas também continham excipientes que inibem proteases e aumentam a absorção de peptídeos. As cápsulas de placebo continham os mesmos excipientes sem o peptídeo. A ingestão de água e alimento, assim como o peso dos cães, foram monitorados diariamente antes, durante e após o período de administração. Foi permitido acesso aos cães acesso a uma quantidade conhecida de alimento por um período de 8 horas todos os dias e água foi proporcionada *ad libitum*. Como mostrado na figura 2, em dosagens equivalentes, a SEQ ID NO: 3 e o sCT diminuíram de maneira significativa a ingestão de alimento por toda a semana de administração, enquanto o PYY exibiu um efeito menor. A ingestão de alimento pelos cães que receberam placebo permaneceu inalterada.

Como mostrado na figura 3, os cães que receberam a SEQ ID NO: 3 e sCT apresentaram uma redução pequena, mas significativa, do peso durante o período de administração, enquanto os cães que receberam a mesma dose de PYY apresentaram mudança muito pequena (0,05% por dia) do peso. Os cães que receberam cápsulas de placebo apresentaram um pequeno aumento do peso.

Enfim, enquanto a ingestão de água também foi reduzida durante o período de administração, ela o foi em uma quantidade menor do que a redução da ingestão de alimento. Tanto a ingestão de alimento quanto de água retornaram aos níveis anteriores à administração no período de eliminação de uma semana após a administração.

As figuras 1-3 proporcionam evidências de que a SEQ ID NO: 3 oferece o potencial de afetar o comportamento de alimentação reduzindo o consumo de alimentos com uma potência comparável àquela do peptídeo contrário à absorção óssea sCT.

5 Da mesma maneira, a figura 4 ilustra que o UGP269 (SEQ ID NO:12), o UGP 271 (SEQ ID NO:13) e o UGP281 (SEQ ID NO:14) apresentam menor afinidade de ligação com o receptor da calcitonina do que a calcitonina do salmão.

10 As figuras 5 e 6 ilustram a boa eficácia no controle do peso do UGP269 (SEQ ID NO:12), do UGP 271 (SEQ ID NO:13) e do UGP281 (SEQ ID NO:14). A figura 6 proporciona evidências de substancial aumento da eficácia pelo grupo acetila na cisteína da posição 1 da (SEQ ID NO:14).

15 Ainda que a presente invenção tenha sido descrita em relação a modalidades particulares da mesma, muitas outras variações e modificações e outros usos ficarão aparentes para aqueles versados na técnica. A presente invenção, assim, não está limitada pela descrição específica neste relatório, mas somente pelas reivindicações.

## REIVINDICAÇÕES

1. Peptídeo de 33 aminoácidos, caracterizado pelo fato de que o peptídeo não é calcitonina de salmão ou de enguia ou de amilina humana, e em que os 32 aminoácidos que constituem as posições 2-33 do peptídeo 5 são idênticos aos 32 aminoácidos que constituem posições 1-32 de SEQ ID NO: 1.
2. Peptídeo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que uma posição do peptídeo é Lys, posição 27 do peptídeo é a Asp, a posição 28 do peptídeo é Val, posição 30 do peptídeo é Ala, posição 31 do 10 peptídeo é Asn, e a posição 33 do peptídeo é um Tyr amidado.
3. Peptídeo cuja sequência de aminoácidos é pelo menos 93 por cento idêntica à SEQ ID NO: 1, caracterizado pelo fato de que o peptídeo não é calcitonina de salmão ou de enguia ou de amilina humana, em que as posições 2-30 do peptídeo são idênticas às posições 2-30 da SEQ ID NO: 1, 15 em que a posição 26 do peptídeo é Asp, em que a posição 27 do peptídeo é Val, em que a posição 29 do peptídeo é Ala, em que a posição 30 do peptídeo é Asn, e em que a posição 1 do peptídeo é Cys que foi modificada para reduzir a sua carga positiva.
4. Peptídeo de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo 20 fato de que a posição 32 do peptídeo é uma Pro amidada ou uma Tyr amidada.
5. Peptídeo de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a posição 1 Cys foi modificada com um grupo selecionado a partir de uma acetila ou succinila.
6. Peptídeo que possui a sequência de aminoácidos estabeleci- 25 da na SEQ ID NO: 1, caracterizado pelo fato de que : (i) o resíduo 26 pode ser Asn ou As, (ii) o resíduo 29 pode ser Ser ou Ala, e (iii) o resíduo 30 é Asn ou o resíduo 32 é Tyr.
7. Peptídeo caracterizado pelo fato de possuir a sequência de 30 aminoácidos estabelecida na SEQ ID NO: 14.
8. Peptídeo caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácidos é pelo menos 90 por cento idêntica à SEQ ID NO: 1, em que o pep-

tídeo não é calcitonina de salmão ou de enguia ou amilina humana, em que as posições 2-10 do peptídeo são idênticas às posições 2-10 da SEQ ID NO: 1, em que as posições 12-17 do peptídeo são idênticas às posições 12-17 de SEQ ID NO: 1, em que as posições 19-21 do peptídeo são idênticas às 5 posições 19-21 da SEQ ID NO: 1, em que as posições 23-32 do peptídeo são idênticas às posições 23-32 de SEQ ID NO: 1, em que a posição 1 do peptídeo é Cys que foi modificado com um grupo de proteção para reduzir a sua carga positiva, e em que a posição 26 do peptídeo é Asp, a posição 27 do peptídeo é Val, a posição 29 do peptídeo é Ala, a posição 30 do peptídeo 10 é Asn, e a posição 32 do peptídeo é uma Tyr amidada com um grupo acetila.

9. Peptídeo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a posição 1 Cys foi modificada com um grupo acetila.

10. Peptídeo caracterizado pelo fato de que a sua sequência de aminoácidos é pelo menos 93 por cento idêntica à SEQ ID NO: 1, em que o 15 peptídeo não é calcitonina de enguia ou amilina humana, em que as posições 2-32 do peptídeo são idênticas às posições 2-32 da SEQ ID NO: 1, em que a posição 1 do peptídeo é Cys que foi modificado com um grupo de proteção para reduzir a sua carga positiva, e em que a posição 26 do peptídeo é Asn, a posição 27 do peptídeo é Thr, a posição 29 do peptídeo é Ser, a 20 posição 30 do peptídeo é Gly, e a posição 32 do peptídeo é um Pro amidado.

11. Peptídeo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a posição 1 Cys foi modificada com o grupo selecionado de propionila ou succinila.

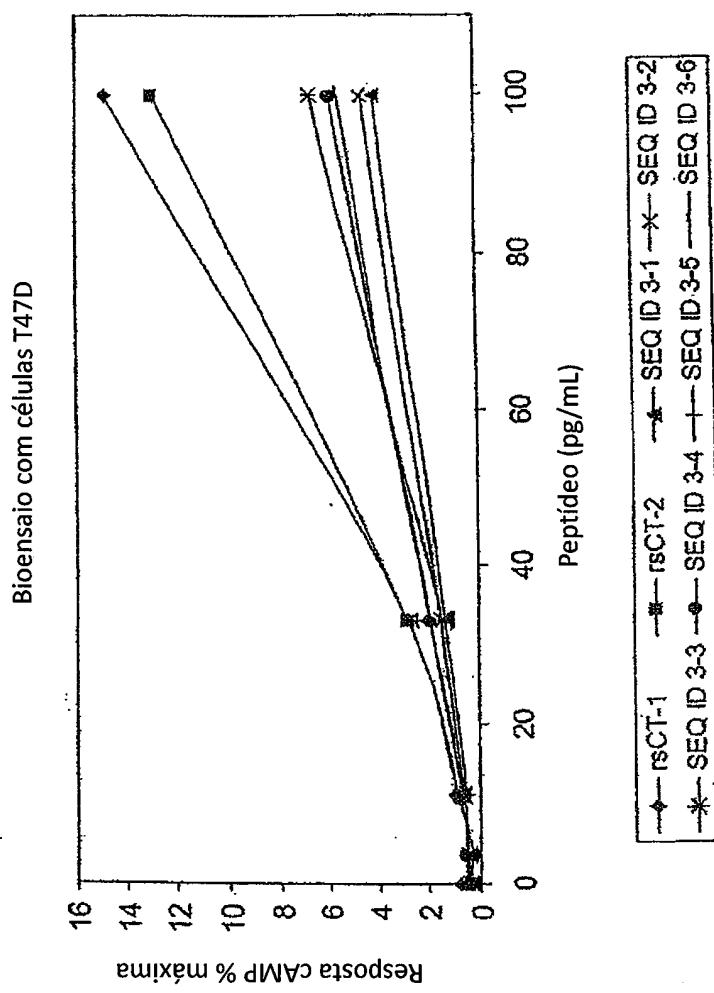
25 12. Composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que compreende o peptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11.

30 13. Uso de um peptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica como definida na reivindicação 12 para o tratamento ou prevenção de uma condição de excesso de peso ou obesidade em um paciente.

14. Uso de um peptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de uma composição farmacêutica como definida na reivindicação 12 para suprimir o apetite em um paciente.

5        15. Uso de um peptídeo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de composição farmacêutica como definida na reivindicação 12 para o tratamento de diabetes em um paciente.

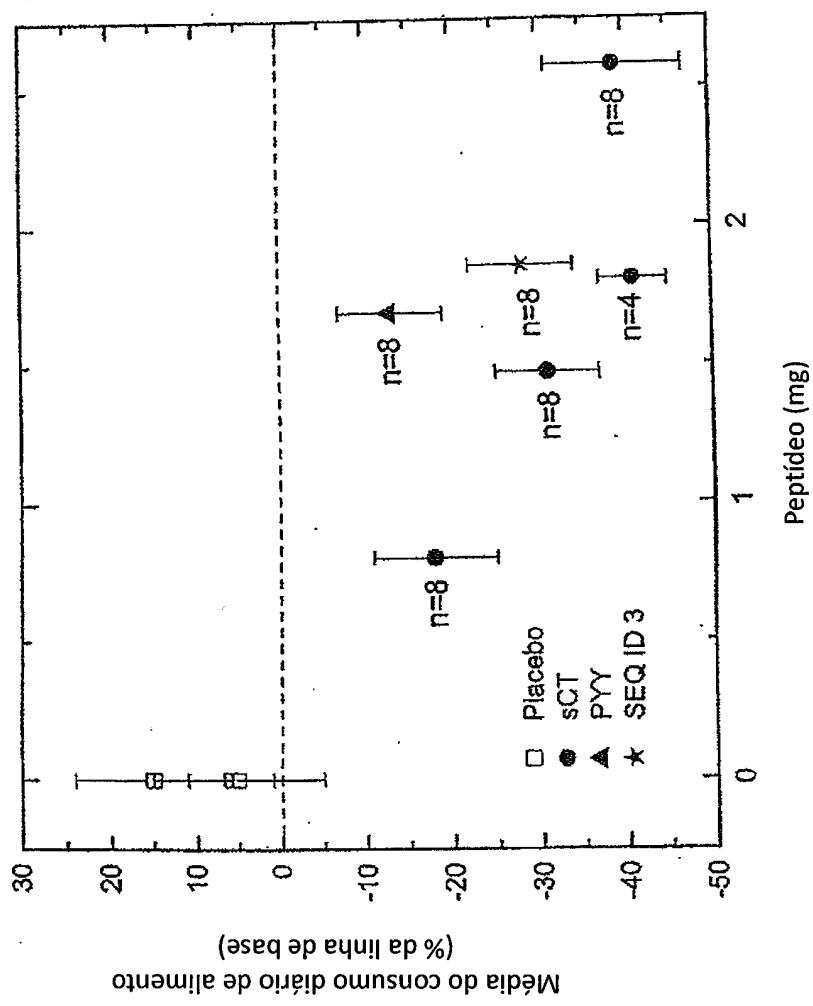
10      16. Invenção, em quaisquer formas de suas concretizações ou em qualquer categoria aplicável de reivindicação, por exemplo, de produto ou de processo ou uso englobadas pela matéria inicialmente descrita, revelada ou ilustrada no pedido de patente.



Dois experimentos de bioensaio em réplica foram realizados para medição da resposta cAMP com células T47D. Todos os experimentos compararam três amostras da SEQ ID NO:3 com uma amostra de rsCT.

FIG. 1

Média da alteração diária do consumo de alimento após a administração de cápsulas orais contendo diferentes doses de sCT, PYY ou a SEQ ID NO:3 a cães Beagle por 4 a 7 dias.



\* A linha de base é o consumo médio dos cães do estudo

*FIG. 2*

Média da alteração diária do peso após a administração de cápsulas orais contendo diferentes doses de sCT, PYY ou da SEQ ID NO:3 a cães Beagle por 4 a 7 dias.

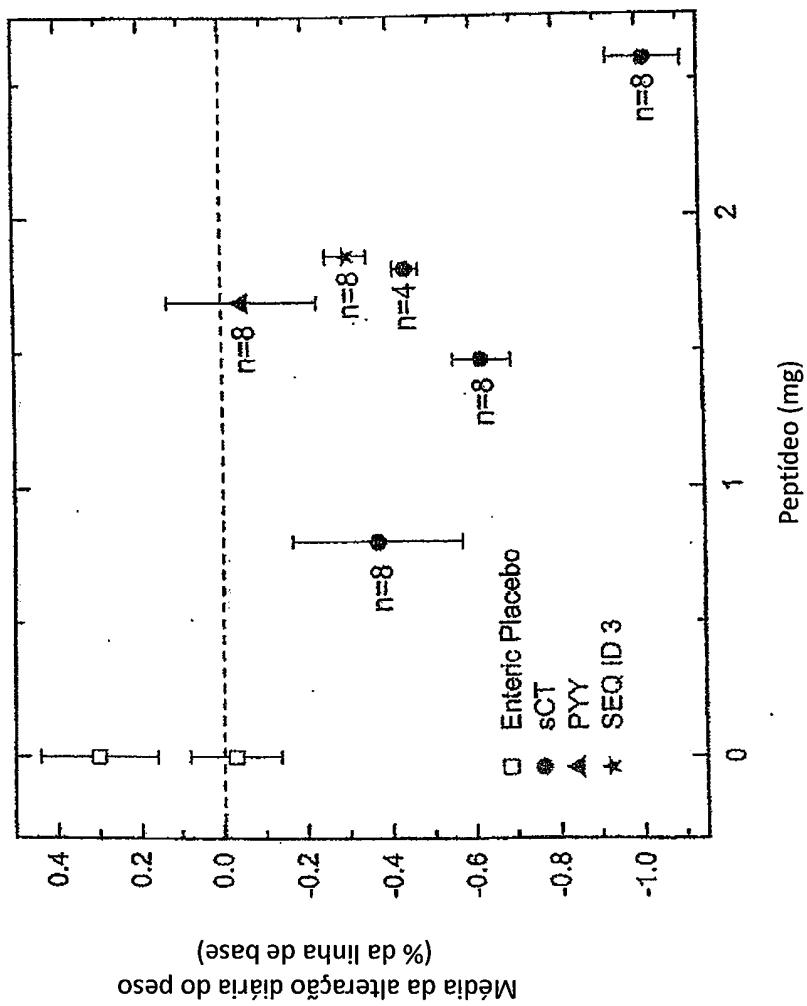
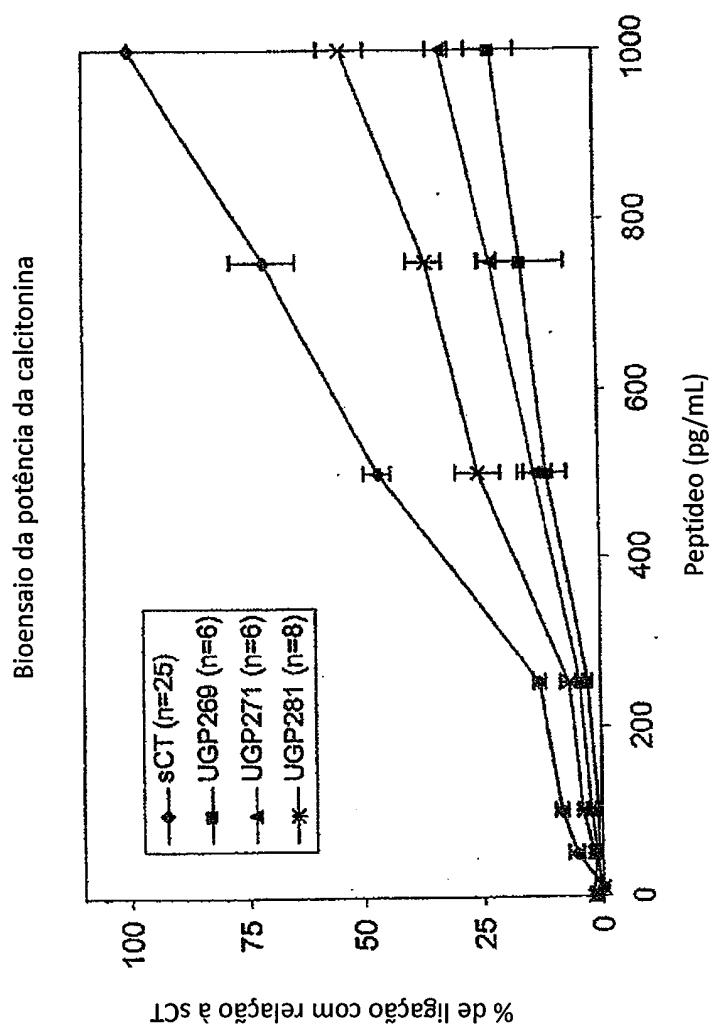


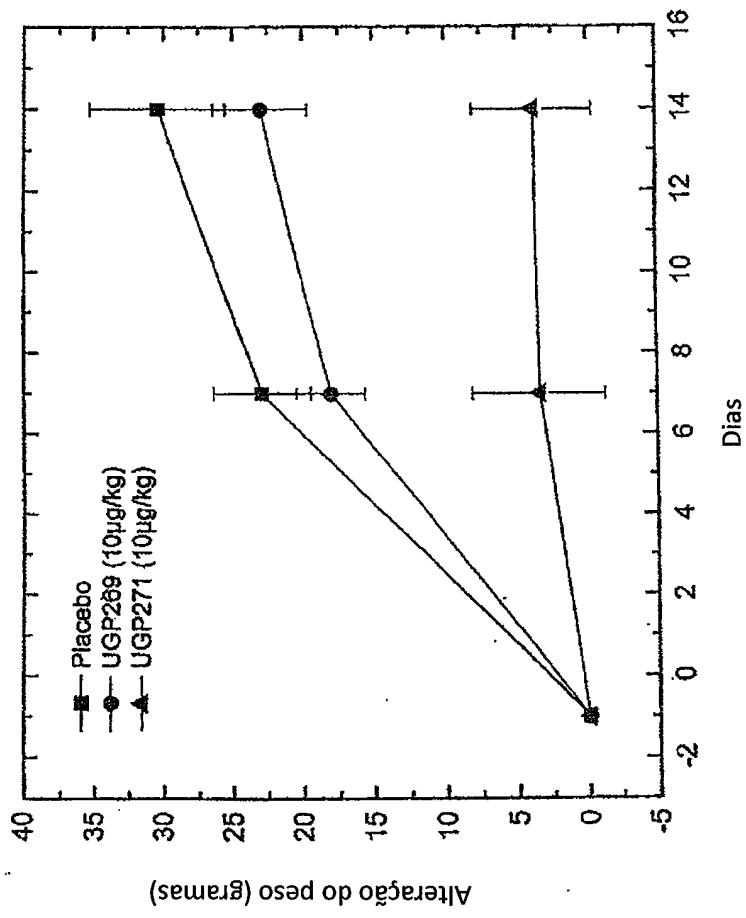
FIG. 3



O UGP269, UGP271 e o UGP281 apresentaram menor ligação com os receptores de sCT do que a sCT.

FIG. 4

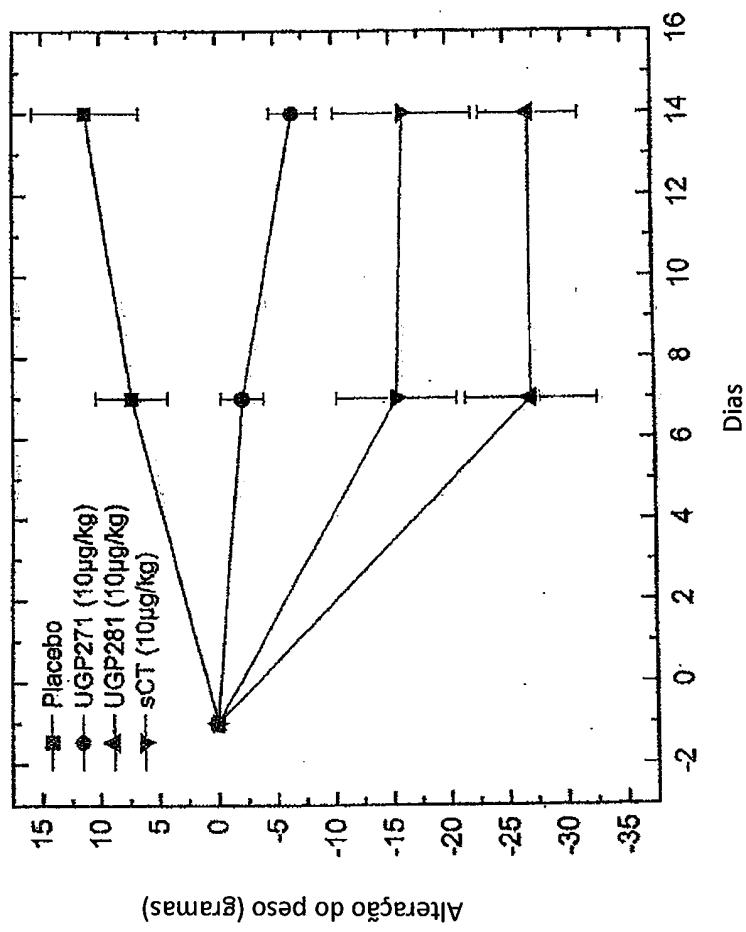
Efeito das injeções diárias de peptídeos anorexigênicos sobre o peso corporal de ratos



Ratos injetados com UGP269 apresentaram menor ganho de peso em 2 semanas do que aqueles injetados com placebo. Os ratos injetados com a mesma dose de UGP271 não apresentaram ganho de peso. O UGP271 continha aproximadamente a mesma sequência de aminoácidos que o UGP269, exceto pela substituição de 3 aminoácidos nas posições 26, 27 e 29.

FIG. 5

Efeito das injeções diárias de peptídeos anorexigênicos sobre o peso corporal de ratos



Ratos injetados por via intramuscular com sCT ou UGP281 apresentaram perda de peso significativa quando injetados por 2 semanas, enquanto aqueles injetados com a mesma dose de UGP271 exibiram perda de peso modesta. O UGP281 e o UGP271 tinham sequências de aminoácidos idênticas, exceto pelo fato de o UGP281 ter sido acilado na porção N-terminal com acetato.

FIG. 6

## RESUMO

**Patente de Invenção: "PEPTÍDEO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE COMPREENDE O PEPTÍDEO E USO DO MESMO".**

A presente invenção refere-se a peptídeos e composições farmacêuticas para a supressão do apetite e o controle do peso. Os peptídeos preferidos são análogos da calcitonina, preferivelmente com alterações de aminoácidos específicas para tornar o peptídeo mais similar à amilina.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas de que trata a Resolução INPI 228 de 11/11/2009:

**Código de Controle**

Campo 1



FFF228FB0D215920

Campo 2



252C1EBF3895C675

**Outras Informações:**

- Nome do Arquivo: P177660.txt
- Data de Geração do Código: 21-07-2011
- Hora de Geração do Código: 17:19:56
- Código de Controle:
  - Campo 1: FFF228FB0D215920
  - Campo 2: 252C1EBF3895C675