

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 204**

51 Int. Cl.:

A61K 38/26 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2018** **E 21150552 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2024** **EP 3881861**

54 Título: **Pautas posológicas para la administración de análogos del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2)**

30 Prioridad:

16.06.2017 GB 201709643

05.09.2017 GB 201714203

19.01.2018 GB 201800873

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.11.2024

73 Titular/es:

ZEALAND PHARMA A/S (100.0%)

Sydmarken 11

2860 Søborg, DK

72 Inventor/es:

SONNE, KIM;

MOURITZEN, ULRIK;

GLERUP, PETER y

JEPPESEN, PALLE BEKKER

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 989 204 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

Pautas posológicas para la administración de análogos del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2)

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere además a usos médicos para ajustar el volumen del apoyo parenteral (AP) proporcionado a sujetos que reciben tratamiento con análogos del GLP-2 en respuesta al tratamiento y a algoritmos para determinar cambios de volumen del AP.

10 Antecedentes de la invención

El GLP-2 humano es un péptido de 33 aminoácidos con la siguiente secuencia: Hy-His-Ala-Asp-Gly-Ser-Phe-Ser-Asp-Glu-Met-Asn-Thr-Ile-Leu-Asn-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Asn-Trp-Leu-Ile-Gln-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-OH.

Procede del procesamiento postraduccional específico del proglucagón en las células L enteroendocrinas del intestino y en regiones específicas del tronco encefálico. El GLP-2 se une a un único receptor acoplado a la proteína G que pertenece a la familia de las secretinas de glucagón de clase II.

Se ha informado que el GLP-2 induce un crecimiento significativo del epitelio de la mucosa del intestino delgado mediante la estimulación de la proliferación de células madre en las criptas y mediante la inhibición de la apoptosis en las vellosidades (Drucker *et al.*, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7911-7916). El GLP-2 también tiene efectos sobre el crecimiento del colon. Además, el GLP-2 inhibe el vaciamiento gástrico y la secreción del ácido gástrico (Wojdemann *et al.*, 1999, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84: 2513-2517), mejora la función de la barrera intestinal (Benjamin *et al.*, 2000, *Gut* 47: 112-119), estimula el transporte intestinal de la hexosa a través de la regulación de los transportadores de glucosa (Cheeseman, 1997, *Am. J. Physiol.* R1965-71) y aumenta el flujo sanguíneo intestinal (Guan *et al.*, 2003, *Gastroenterology*, 125: 136-147). Una revisión del GLP-2 y sus propiedades está disponible en: <http://jn.nutrition.org/content/131/3/709.full>.

Se ha reconocido en la materia que los análogos del receptor del péptido 2 similar al glucagón tienen potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades intestinales. Sin embargo, el hGLP-2 nativo, un péptido gastrointestinal de 33 aminoácidos, no es útil en un entorno clínico debido a su muy corta semivida en seres humanos de alrededor de 7 minutos para GLP-2 de longitud completa [1-33] y 27 minutos para GLP-2 truncado [3-33]. En gran parte, la corta semivida se debe a la degradación mediante la enzima dipeptidilpeptidasa IV (DPP-IV). Por consiguiente, ha habido intentos en la materia de desarrollar agonistas del receptor de GLP-2 con mejores características farmacocinéticas, en particular, para mejorar la semivida de las moléculas de GLP-2. A modo de ejemplo, se han sugerido análogos del GLP-2 con sustituciones tales como, por ejemplo, análogos del GLP-2 que contienen una sustitución de Gly en la posición 2 ([hGly2] GLP-2, teduglutida) que aumenta la semivida de siete minutos (GLP-2 nativo) a aproximadamente dos horas. La acilación de fármacos peptídicos con cadenas de ácidos grasos también ha demostrado ser beneficiosa para prolongar la circulación sistémica, así como para aumentar la estabilidad enzimática sin alterar la potencia biológica. Sin embargo, aunque estos intentos han mejorado la farmacocinética de los análogos del GLP-2 y, en ocasiones, se describen en la materia como de "acción prolongada", debe tenerse en cuenta que esto es en comparación con el hGLP-2 nativo con semividas del orden de varias horas, en lugar de minutos. Esto, a su vez, significa que los análogos del GLP-2 todavía deben administrarse a los pacientes una o más veces al día.

Existe un interés considerable por parte de los pacientes y los profesionales sanitarios en el desarrollo de péptidos terapéuticos de bajo coste, de acción prolongada y fáciles de usar. Sin embargo, una dificultad importante con la administración de dichos péptidos terapéuticos es su corta semivida en plasma, principalmente debido a la rápida eliminación sérica y a la degradación proteolítica a través de la acción de las proteasas plasmáticas, necesitando inyecciones frecuentes, a menudo a diario. A los pacientes no les gustan las inyecciones, lo que conduce a una reducción del cumplimiento y una reducción de la eficacia del fármaco.

El documento WO 2006/117565 (Zealand Pharma A/S) describe análogos del GLP-2 que comprenden una o más sustituciones en comparación con [hGly2]GLP-2 y que mejoran la actividad biológica *in vivo* y/o mejoran la estabilidad química, por ejemplo, según lo evaluado en ensayos de estabilidad *in vitro*. En particular, se describen análogos del GLP-2 que tienen sustituciones en una o más de las posiciones 8, 16, 24 y/o 28 de la secuencia de GLP-2 de tipo silvestre, opcionalmente en combinación con sustituciones adicionales en la posición 2 y una o más de las posiciones 3, 5, 7, 10 y 11, y/o una eliminación de uno o más de los aminoácidos 31 a 33. Estas sustituciones también pueden combinarse con la adición de una secuencia peptídica estabilizadora aminoterminal o carboxiterminal. También se describe la administración diaria o dos veces al día de estos análogos del GLP-2. Entre las moléculas divulgadas en el documento WO 2006/117565 se encuentra la glepaglutida (ZP1848) que ha sido diseñada para ser estable en formulaciones líquidas y se administra normalmente mediante dosificación diaria utilizando una pluma de inyección.

<Kochar *et al.* (*Journal of Clinical Gastroenterology*, 51(6): 508-511, 1 de julio de 2017, doi: 10.1097/MCG.0000000000000604) informan de un estudio de seguridad y eficacia con teduglutida en pacientes con enfermedad de Crohn con fallo intestinal asociado a síndrome del intestino corto.

Jeppesen *et al.* (Gut, 60(1): 902-914, 7, 1 de julio de 2011, doi: 10.1136/gut.2010.218271) informan de un ensayo aleatorizado controlado con placebo en el que se utilizó teduglutida para reducir las necesidades de nutrición parenteral y/o líquidos intravenosos en pacientes con síndrome del intestino corto.

5 Jeppensen (Therapeutic Advances in Gastroenterology Review, páginas 159-171, 1 de enero de 2012, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3342570/pdf/10.1177_1756283X1143631) revisa los estudios con teduglutida para el tratamiento del síndrome del intestino corto.

10 Jeppensen *et al.* (Gastroenterology, 143(6): 1473-1481, 1 de diciembre de 2012 doi: 10.1053/j.gastro.2012.09.007) describen un estudio prospectivo en el que se investigó el tratamiento con teduglutida para ver si reduce el soporte parenteral en pacientes con síndrome del intestino corto con fallo intestinal (SBS-FI).

15 Schwartz *et al.* (Clinical and Translational Gastroenterology, 7(2): eld2-eld2, 1 de febrero de 2016, doi: 10.1038/ctg.2015.69) informaron de los resultados del ensayo STEPS-2 con teduglutida para tratar el síndrome del intestino corto.>

Sumario de la invención

20 En términos generales, la presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de que las propiedades farmacocinéticas (PK, del inglés "pharmacokinetic") y/o farmacodinámicas (PD, del inglés "pharmacodynamic") de los análogos del GLP-2, por ejemplo, del tipo divulgado en los documentos WO 2006/117565 y WO 2008/056155, permiten una administración menos frecuente de lo que se ha propuesto hasta ahora. Unos experimentos anteriores habían sugerido que los análogos del GLP-2, tales como el ZP1848, tenían una semivida de aproximadamente 17 horas que, 25 que aunque es significativamente más larga que la del GLP-2 u otros análogos del GLP-2, sugería que la administración diaria debía utilizarse en el tratamiento de los pacientes. Sin embargo, un estudio clínico de fase 2 en seres humanos utilizando el análogo del GLP-2 ZP1848 ha descubierto que la semivida terminal en plasma de la molécula es de hecho de entre 5 y 17 días. La semivida terminal en plasma es el tiempo necesario para dividir la concentración en el plasma por dos después de alcanzar un pseudoequilibrio. Sorprendentemente, esto a su vez sugiere que una dosificación significativamente menos frecuente de los análogos del GLP-2 de la presente invención sería eficaz, lo que incluiría una dosificación semanal y de dos veces por semana. Los contenidos de los documentos WO 2006/117565 y WO 2008/056155 se mencionan en el presente documento, en particular en relación con los análogos del GLP-2 divulgados en estos documentos.

35 Los resultados de estudios posteriores también han confirmado que ambos metabolitos de ZP1848, es decir, ZP2711 y ZP2469, estuvieron presentes tras su administración *in vivo* y son farmacológicamente activos, con una potencia *in vitro* comparable a la de ZP1848. El nivel en plasma de ZP2711 está en el mismo intervalo que el de ZP1848, mientras que el nivel en plasma de ZP2469 es varias veces mayor que el de ZP1848. Como consecuencia, ambos metabolitos se pueden incluir cuando se evalúa la exposición sistémica, ya que ambos contribuyen a la eficacia *in vivo*. Debido al 40 elevado nivel en plasma de ZP2469, este compuesto tiene niveles en plasma por encima del límite de detección bioanalítica (50 pM para ZP2469, 25 pM para ZP1848 y ZP2711), por lo que es posible determinar la semivida del compuesto ZP2469. Una semivida terminal en plasma de entre 5 y 17 días, como se muestra en los ejemplos, sugiere que la dosificación de ZP1848 una o dos veces por semana sería eficaz.

45 Esto a su vez permite la administración de los análogos del GLP-2 de acuerdo con la presente invención, por ejemplo, la administración una o dos veces por semana. Como alternativa, o adicionalmente, la pauta posológica de los análogos del GLP-2 de la presente invención puede comprender una pluralidad o serie de dosis separadas en el tiempo por 2 días, 2,5 días, 3 días, 3,5 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días o 12 días. En una realización preferida, las dosis están separadas en el tiempo por 3 días, 3,5 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días u 8 días. En una realización preferida, las dosis están separadas en el tiempo por 3 días, 3,5 días, 4 días o 7 días. 50 Como se puede apreciar en la materia, el tiempo entre dosis puede variarse hasta cierto punto para que todas y cada una de las dosis no estén separadas exactamente por el mismo tiempo. Esto a menudo será dirigido a discreción del médico. Por lo tanto, las dosis pueden estar separadas en el tiempo por un intervalo de tiempo clínicamente aceptable, por ejemplo, de aproximadamente 2 días a aproximadamente 10 días, o de aproximadamente 3 o 4 días a aproximadamente 7 u 8 días. Los resultados del ensayo clínico que respaldan estas conclusiones se incluyen en los 55 ejemplos siguientes.

60 Sin desear quedar ligados a teoría alguna, actualmente se cree que la inesperada semivida larga de los análogos del GLP-2, que permite la dosificación una o dos veces por semana, podría obtenerse debido a la combinación de la formación de un depósito subcutáneo y la formación de metabolitos que se liberan lentamente del depósito subcutáneo y que también son agonistas del receptor GLP-2. Los presentes inventores creen que el depósito subcutáneo se forma tras la administración de análogos del GLP-2 a través de una reacción entre los análogos, es decir, la cola de lisina y con ácido hialurónico en el compartimento subcutáneo. Este tipo de depósito no se ha visto antes para otros compuestos que tienen una cola de lisina, tales como la lixisenatida, que tiene una semivida de 2 a 4 horas.

65 Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un análogo del péptido 2 similar al glucagón

(GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento del síndrome del intestino corto (SBS) en un sujeto humano que recibe una pauta del apoyo parenteral (AP), en donde el tratamiento comprende ajustar el volumen del apoyo parenteral (AP) cada semana mediante:

- 5 (i) administrar al sujeto un análogo del GLP-2 durante un tiempo suficiente para hacer crecer y/o mejorar la función del intestino delgado del sujeto;
- (ii) después de la etapa (i), reducir el volumen de la pauta del apoyo parenteral (AP) en respuesta a una función mejorada del intestino delgado; y
- 10 (iii) opcionalmente repetir las etapas (i) y (ii) en respuesta a la función mejorada demostrada por el sujeto con el tiempo como resultado de un mayor crecimiento del intestino delgado;

en donde en el método anterior, la etapa (ii) comprende las etapas de:

- 15 (a) determinar el volumen semanal actual del AP requerido por el sujeto en ese momento del tratamiento;
- (b) medir el volumen de orina actual producido por el sujeto y compararlo con el volumen de orina de referencia determinado al inicio del tratamiento con GLP-2 para determinar un aumento absoluto de la producción de orina al día; y
- 20 (c) reducir el volumen del AP cuando el sujeto demuestre una mejora de la función del intestino delgado, indicada por un aumento absoluto de la producción de orina al día;

- 25 en donde el nuevo volumen del AP semanal reducido calculado para el sujeto es igual al volumen del AP semanal actual menos 7 veces el aumento absoluto del volumen de orina diario con respecto al valor de referencia;

en donde el método comprende administrar al sujeto el volumen del AP calculado; y

- 30 en donde el método comprende una etapa inicial de determinación del volumen de orina de referencia y/o determinación del volumen de orina diario del sujeto.

A modo de ejemplo, el período de tratamiento durante el cual se administra el análogo del GLP-2 al sujeto puede ser de 18 a 150 semanas, por ejemplo, de 18 a 100 semanas o de 18 a 52 semanas. Sin embargo, en otros casos donde el SBS es una afección crónica, los pacientes pueden necesitar tratamiento por el resto de sus vidas.

- 35 En el presente contexto, la expresión "apoyo parenteral" o "AP" incluye el suministro de nutrientes y/o líquidos al sujeto que recibe la terapia con GLP-2 como un medio para proporcionar al sujeto los nutrientes y/o los líquidos que necesita, pero que no puede absorber completamente debido a su afección. La determinación de la cantidad o el volumen correcto del AP para proporcionar a los sujetos con SBS que están recibiendo la terapia con el GLP-2 es un desafío porque si el volumen del AP no se ajusta de manera oportuna y adecuada, los pacientes pueden experimentar una sobrecarga de líquidos, tienen riesgo de deshidratación y es posible que no logren una respuesta clínica óptima a la terapia. Esto es más complicado ya que el volumen del AP requerido por un sujeto variará normalmente durante el curso de la terapia con el GLP-2 dependiendo de su respuesta a la terapia. Normalmente, la evaluación de la cantidad de volumen del AP requerida por el sujeto a medida que avanza la terapia con el GLP-2 depende de cuánto tiempo ha continuado la terapia y de la capacidad de respuesta de los pacientes individuales a la misma. En vista de esta variación, se puede realizar una evaluación inicial del volumen del AP dentro de los primeros días de la terapia con el GLP-2 y, por lo general, va seguida de una evaluación semanal durante el primer mes, una evaluación mensual durante los siguientes 1 a 3 meses y, posteriormente, una evaluación cada 3 a 6 meses hasta que finalice el tratamiento. Esto es importante ya que los sujetos pueden experimentar una respuesta inicial rápida a la terapia con el GLP-2, mejorar la función del intestino delgado, por ejemplo, incluso antes de que se observe un aumento en la longitud del intestino. Esto, a su vez, permite reducir el volumen del AP, evitando así el riesgo de efectos secundarios, tales como la sobrecarga de líquidos.
- 40
- 45
- 50

- 55 Por consiguiente, en el método anterior, la etapa (ii) puede incluir la etapa de (a) determinar el volumen del AP requerido por el sujeto en ese punto del tratamiento, (b) compararlo con un volumen del AP inicial determinado al comienzo de la terapia con el análogo del GLP-2 y (c) reducir la frecuencia o el volumen del AP cuando el sujeto demuestra una función mejorada del intestino delgado. Opcionalmente, la reducción de una frecuencia o volumen del apoyo parenteral (AP) en la etapa (ii) se puede realizar utilizando el algoritmo que se describe a continuación.
- 60

A modo de ilustración de la relación entre la cantidad de apoyo parenteral requerido por los pacientes y el grado de mejora de la función intestinal, actualmente se cree que un aumento del 40 % en la longitud del intestino delgado daría como resultado al menos una mejora adicional del 10 % en la función o en la capacidad de absorción del intestino delgado. Generalmente, la terapia con GLP-2 de acuerdo con la presente invención conduce a una función o una capacidad de absorción del intestino delgado mejorada de al menos un 10 %, más preferentemente al menos un 20 %, más preferentemente al menos un 30 %, más preferentemente al menos un 40 % y lo más preferentemente al menos

un 50 %. De manera adicional o alternativa, la cantidad de reducción del apoyo parenteral durante el transcurso de la terapia con GLP-2 es al menos de un 10 %, más preferentemente al menos un 20 %, más preferentemente al menos un 30 %, más preferentemente al menos un 40 % y lo más preferentemente al menos un 50 %. En una realización preferida, la reducción del apoyo parenteral es al menos de un 20 %.

5 En un aspecto relacionado adicional, la presente invención aborda uno de los desafíos que enfrentan los pacientes y los médicos al iniciar la terapia con GLP-2, que es el ajuste adecuado e individualizado en el volumen del apoyo parenteral (AP) proporcionado al paciente.

10 Esto es importante porque si el volumen del AP no se ajusta de manera oportuna y adecuada, los pacientes pueden experimentar una sobrecarga de líquidos, riesgos de deshidratación y es posible que no logren una respuesta clínica óptima con la terapia.

15 Por ejemplo, en un estudio previo de fase 3 de tratamiento de 24 semanas con el análogo del GLP-2 teduglutida, se realizó un intento de reducir el volumen de la nutrición parenteral en un 10 % por mes como mínimo en la semana 4 después del inicio del tratamiento, si la producción de orina aumentaba en al menos un 10 % con respecto al valor inicial. Muchos de los pacientes de este estudio sufrieron sobrecarga de líquidos y dejaron de beber (Jeppesen *et al.* 2011, Gut 2011;60:902-914). En un estudio de seguimiento de fase 3, un estudio de 24 semanas de pacientes con SBS que recibieron teduglutida subcutánea (Jeppesen *et al.* 2012, Gastroenterology 2012;143:1473-1481), el
20 protocolo permitió una reducción del volumen del apoyo parenteral al menos un 10 %, pero no más de un 30 %, después de 2 semanas de tratamiento, si la producción de orina aumentaba en al menos un 10 % con respecto al valor inicial. Sin embargo, en este estudio, los pacientes también sufrieron sobrecarga de líquidos, en particular al inicio del tratamiento.

25 Como consecuencia, en este aspecto, la presente invención permite la evaluación temprana de las necesidades de líquido del AP alterados (por ejemplo, a los pocos días de iniciar la terapia con GLP-2) y proporciona algoritmos para ajustar el volumen del AP durante un transcurso de la terapia con GLP-2. Los expertos en la materia apreciarán que este enfoque que utiliza el algoritmo para ajustar el volumen del AP proporciona un ajuste personalizado del volumen del AP para cada paciente. Este aspecto de la presente invención es aplicable a terapias con GLP-2 que utilizan los
30 análogos del GLP-2 divulgados en el presente documento o que utilizan análogos del GLP-2 conocidos en otras partes de la materia, tal como la teduglutida.

También se describe un método para ajustar un volumen del apoyo parenteral (AP) en un sujeto humano que recibe una cantidad o un volumen del apoyo parenteral cada semana, comprendiendo el método calcular un nuevo volumen
35 del AP utilizando un algoritmo en el que se calcula un volumen del AP durante una semana restando siete veces el aumento absoluto en el volumen de orina diario de un volumen de referencia, es decir, volumen del AP al inicio de la terapia con GLP-2, del volumen semanal actual del apoyo parenteral para proporcionar el nuevo volumen del AP para el sujeto. Por lo tanto, el nuevo volumen del AP (semanal) para el sujeto es igual al volumen del AP actual (semanal) menos 7 veces el aumento absoluto en el volumen de orina diario desde el volumen de referencia.

40 También se describe un método para determinar un volumen del apoyo parenteral (AP) para un sujeto humano que recibe tratamiento con GLP-2, comprendiendo el método:

45 opcionalmente determinar un volumen de orina diario de referencia al inicio del tratamiento con GLP-2;

calcular un nuevo volumen del AP (semanal) para el sujeto para la semana siguiente basándose en un volumen del AP actual (semanal) y un volumen de orina diario (por ejemplo, de una visita médica) utilizando un algoritmo en el que el nuevo volumen del AP (semanal) para el sujeto es igual al volumen del AP actual (semanal) - 7 ×
50 aumento absoluto del volumen de orina diario con respecto al volumen de referencia.

En algunos casos, la etapa de cálculo se lleva a cabo si el volumen de orina diario es al menos un 10 % mayor que el volumen de orina de referencia. Este método puede comprender la etapa adicional de determinar el volumen del AP actual (semanal) para su uso en el cálculo del nuevo volumen del AP utilizando el algoritmo.

55 Se entenderá que, el método puede comprender además la etapa de administrar el volumen del AP al sujeto. Además, el método puede repetirse, por ejemplo, cada semana, mes o en visitas al médico, permitiendo que el volumen del AP se reduzca en respuesta a que el sujeto demuestre una función mejorada continua del intestino delgado. En una realización, el ajuste del volumen del AP da como resultado un volumen de orina de al menos 800 ml/día (24 horas), tal como al menos 1000 ml/día (24 horas) o más. Una ventaja particular de este método es que los efectos del
60 tratamiento y el consiguiente ajuste del volumen del AP se pueden llevar a cabo muy temprano en la terapia con GLP-2, por ejemplo, en los primeros días de tratamiento, que es significativamente más rápido en comparación con los enfoques de la materia anterior. Por ejemplo, de acuerdo con la presente invención, los sujetos pueden someterse a una optimización a las 0 a 4 semanas, seguido de una fase de estabilización de 2 a 4 semanas. El algoritmo para las reducciones del volumen del AP puede basarse en cambios en el volumen de la orina medido durante 48 horas.

65 En algunas realizaciones de este aspecto de la presente invención, la terapia con GLP-2 puede comprender la

administración de un análogo del GLP-2 representado por la fórmula divulgada en el presente documento, en particular, utilizando los ejemplos de estos análogos del GLP-2. En una realización preferida, el análogo del GLP-2 es ZP1848.

5 Preferentemente, el método incluye las etapas iniciales de determinar el volumen inicial y/o determinar el volumen diario de orina. Algunas o todas las etapas del método pueden repetirse durante el transcurso de la terapia con GLP-2 recibida por el sujeto. Preferentemente, la primera evaluación y la determinación de los cambios en los ajustes de volumen del AP se realiza al principio de la terapia con GLP-2, tal como unos días después del inicio de la terapia con GLP-2, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7 días después del inicio de la terapia con GLP-2. Preferentemente, el tiempo entre pruebas repetidas para determinar los cambios en los ajustes de volumen del AP es inicialmente semanal y más tarde aproximadamente cada 1 a 3 meses. Por ejemplo, en una realización, el método puede utilizarse en las semanas 1, 2, 4, 8 y 12 después del inicio del tratamiento con el análogo del GLP-2, ajustando el volumen del AP en respuesta a los efectos del tratamiento. El volumen semanal del AP administrado debe controlarse y ajustarse durante todo el tratamiento con el análogo del GLP-2 (por ejemplo, gilepaglutida) para evitar la sobrecarga de líquidos. Generalmente, a medida que aumenta la capacidad de absorción del intestino después del tratamiento con el análogo del GLP-2, normalmente mediante elongación o engrosamiento del intestino delgado, el volumen del AP se puede reducir para evitar la sobrecarga de líquidos y mejorar las necesidades del tratamiento del paciente.

20 En todos los aspectos de la presente invención, el método de administración del análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) comprende opcionalmente administrar una pluralidad de dosis del análogo del GLP-2 al paciente, en donde las dosis están separadas en el tiempo por una semana o media semana. En algunos casos, puede ser deseable dividir una dosis total en una pluralidad (por ejemplo, dos o tres) dosis separadas, por ejemplo, para la administración en lugares de inyección separados, por ejemplo, espaciar los lugares de inyección al menos a 5 cm de distancia.

Preferentemente, las dosis de los análogos del GLP-2 utilizados de acuerdo con la presente invención están en el intervalo de entre 0,5 mg y 25 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, opcionalmente entre 1 mg y 20 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, opcionalmente entre 1 mg y 10 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, opcionalmente entre 2 mg y 7 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, u opcionalmente entre 2 mg y 5 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana. En una realización, la dosis de los análogos del GLP-2 utilizados de acuerdo con la presente invención es de 10 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana. En el transcurso del tratamiento, las dosis tomadas por el paciente pueden ser iguales o diferentes de acuerdo con las instrucciones del médico.

Preferentemente, el análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) se administra a los pacientes mediante inyección, más normalmente mediante inyección subcutánea o inyección intramuscular. En algunas realizaciones preferidas, el análogo del GLP-2 se puede administrar utilizando una pluma de inyección, que permiten a los pacientes administrarse a sí mismos el análogo. En algunos aspectos, la administración del análogo del GLP-2 provoca la formación de un depósito subcutáneo a partir del cual el análogo del GLP-2, o metabolitos del mismo, se liberan. Sin desear quedar ligado a ninguna explicación particular, el depósito subcutáneo puede formarse mediante la interacción de los análogos del GLP-2 administrados de acuerdo con la presente invención, en particular cuando los análogos comprenden una cola de lisina (es decir, un grupo Z¹ y/o un grupo Z²), a través de una reacción entre los análogos y el ácido hialurónico en el compartimento subcutáneo.

En algunas realizaciones de la presente invención, en la fórmula anterior, X5 es Thr y/o X11 es Ala. Los ejemplos de estos análogos del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) incluyen:

50 ZP1848 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKKKKKK-NH₂ (SEQ ID NO: 1)
 ZP2949 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKKK-OH (SEQ ID NO: 2)
 ZP2711 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKK-OH (SEQ ID NO: 3)
 ZP2469 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDK-OH (SEQ ID NO: 4)
 ZP1857 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITD-NH₂ (SEQ ID NO: 5)
 55 ZP2530 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITD-OH (SEQ ID NO: 6)

En algunas realizaciones de la presente invención, en la fórmula anterior, X5 es Ser y/o X11 es Ser. Los ejemplos de estos análogos del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) incluyen:

60 ZP1846 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITDKKKKKK-NH₂ (SEQ ID NO: 7)
 ZP1855 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITD-NH₂ (SEQ ID NO: 8)
 ZP2242 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITDK-OH (SEQ ID NO: 9)

Las realizaciones de la presente invención se describirán ahora a modo de ejemplo y no de limitación. Sin embargo, diversos aspectos y realizaciones adicionales de la presente invención serán evidentes para los expertos en la materia a la vista de la presente divulgación.

Cuando se utiliza en el presente documento, "y/o" debe interpretarse como la divulgación específica de cada una de las dos características o componentes especificados, con o sin el otro. Por ejemplo, "A y/o B" ha de interpretarse como la divulgación específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, como si cada uno de ellos se expusiera de manera individual en el presente documento.

A menos que el contexto indique otra cosa, las descripciones y definiciones de las características establecidas anteriormente no se limitan a ningún aspecto o realización particular de la invención y se aplican igualmente a todos los aspectos y realizaciones que se describen.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

A menos que se especifique otra cosa, las siguientes definiciones se proporcionan para términos específicos, que se utilizan en la descripción escrita anterior.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones se utilizan los códigos convencionales de una y tres letras para los aminoácidos naturales. Todos los restos de aminoácidos en los péptidos de la invención son preferentemente de configuración L. Sin embargo, también pueden estar presentes aminoácidos de configuración D.

Los compuestos preferidos de la presente invención tienen al menos una actividad biológica de GLP-2, en particular para provocar el crecimiento del intestino. Esto se puede evaluar en ensayos *in vivo*, por ejemplo, como se describe en los ejemplos, en los que se determina la masa del intestino, o una porción del mismo, después de que un animal de prueba se haya tratado o expuesto a un análogo del GLP-2.

Los análogos del GLP-2 de la presente invención tienen una o más sustituciones, eliminaciones, inversiones o adiciones de aminoácidos en comparación con el GLP-2 nativo y como se definió anteriormente. Esta definición también incluye los términos sinónimos miméticos de GLP-2 y/o agonistas de GLP-2. Además, el análogo de la presente invención puede tener de manera adicional una modificación química de uno o más de sus grupos laterales de aminoácidos, átomos de carbono α , grupo amino terminal o grupo ácido carboxílico terminal. Una modificación química incluye, pero sin limitación, la adición de restos químicos, la creación de nuevos enlaces y la eliminación de restos químicos. Las modificaciones en los grupos laterales de aminoácidos incluyen, sin limitación, acilación de grupos ϵ -amino de lisina, N-alquilación de arginina, histidina o lisina, alquilación de grupos de ácido carboxílico, glutámico o aspártico y desamidación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del extremo amínico incluyen, sin limitación, las modificaciones desamino, N-alquilo inferior, N-di-alquilo inferior y N-acilo. Las modificaciones del grupo carboxiterminal incluyen, sin limitación, modificaciones de la amida, amida de alquilo inferior, dialquil amida y éster de alquilo inferior. Preferentemente en el presente documento, el alquilo inferior es alquilo C₁-C₄. Además, uno o más grupos laterales, o grupos terminales, pueden protegerse mediante grupos protectores conocidos por el químico en péptidos habitualmente experto. El carbono α de un aminoácido puede estar mono o di-metilado.

Debe entenderse que los péptidos de la invención también se pueden proporcionar en forma de sal u otro derivado. Las sales incluyen sales farmacéuticamente aceptables tales como sales de adición de ácido y sales básicas. Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales de clorhidrato, sales de citrato y sales de acetato. Los ejemplos de sales básicas incluyen sales en las que el catión se selecciona entre metales alcalinos, tales como sodio y potasio, metales alcalinotérreos, tales como el calcio, e iones de amonio $^+N(R^3)_3(R^4)$, donde R³ y R⁴ indican de manera independiente alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido, alqueno C₂₋₆ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17.^a edición. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, EE. UU., 1985 y ediciones más recientes, y en la Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology.

Otros derivados de los análogos del GLP-2 de la invención incluyen complejos de coordinación con iones metálicos tales como Mn²⁺ y Zn²⁺, ésteres tales como ésteres hidrolizables *in vivo*, ácidos o bases libres, hidratos, profármacos o lípidos. Los ésteres se pueden formar entre grupos de ácido hidroxilo o ácido carboxílico presentes en el compuesto y un compañero de reacción de ácido carboxílico o alcohol adecuado, utilizando técnicas bien conocidas en la materia. Los derivados que, como profármacos de los compuestos, se convierten *in vivo* o *in vitro* en uno de los compuestos originales. Normalmente, al menos una de las actividades biológicas del compuesto se reducirá en la forma de profármaco del compuesto y se puede activar mediante la conversión del profármaco para liberar el compuesto o un metabolito del mismo. Los ejemplos de profármacos incluyen el uso de grupos protectores que pueden eliminarse *in situ* mediante la liberación del compuesto activo o pueden servir para inhibir la eliminación del fármaco *in vivo*.

Z¹ y Z² están presentes y/o ausentes de manera independiente o una secuencia peptídica de 1 a 6 unidades de aminoácidos de Lys, es decir, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 restos de Lys. Los restos de Lys pueden tener configuración D o L, pero tienen una configuración en L. Las secuencias Z particularmente preferidas son secuencias de cuatro, cinco o seis restos de lisina consecutivos, y particularmente seis restos de lisina consecutivos. Las secuencias Z ilustrativas se muestran en el documento WO 01/04156. En determinadas realizaciones, Z¹ está ausente. En dichos casos, Z² puede

estar presente o ausente.

Composiciones farmacéuticas y administración

5 Los análogos del GLP-2 de la presente invención, o sales o derivados de los mismos, pueden formularse como composiciones farmacéuticas preparadas para su almacenamiento o administración, y que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido GLP-2 de la presente invención, o una sal o un derivado del mismo, en un
10 vehículo farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con las pautas posológicas de la presente invención, los análogos del GLP-2 se administran a los pacientes, por ejemplo, un paciente humano, una o dos veces por semana. Por lo tanto, un ciclo de administración de acuerdo con la presente invención puede implicar administrar a un paciente un ciclo de dosis separadas en el tiempo por 2 días, 2,5 días, 3 días, 3,5 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días o 14 días, y más preferentemente separados en el tiempo por 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días u 8 días. En algunas situaciones específicas, la presente invención puede implicar la administración a un paciente de una dosis fija de, por ejemplo, 10 mg una o dos veces por semana.

15 La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención dependerá de la vía de administración, el tipo de mamífero que se está tratando y las características físicas del mamífero específico que se está considerando. Estos factores y su relación con la determinación de esta cantidad son bien conocidos por los médicos expertos en la materia. Esta cantidad y el método de administración se pueden adaptar para lograr una eficacia óptima a fin de
20 administrar el péptido al intestino grueso, pero dependerá de factores tales como el peso, la dieta, la medicación simultánea y otros factores, bien conocidos los expertos en las materias médicas.

Está dentro de la invención proporcionar una composición farmacéutica, en donde el análogo del GLP-2, o una sal del mismo, está presente en una cantidad eficaz para tratar o prevenir trastornos relacionados con el estómago y el
25 intestino o para inducir el crecimiento longitudinal del intestino.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención que tienen una fracción de ácido se pueden formar utilizando bases orgánicas e inorgánicas. Las bases adecuadas formadas con bases incluyen sales de metales, tales como, sales de metal alcalino o de metal alcalinotérreos, por ejemplo, sales de sodio, potasio o
30 magnesio; sales de amoníaco y sales de aminas orgánicas, tales como las formadas con morfina, tiomorfolina, piperidina, pirrolidina, una mono-, di- o tri-alquilamina inferior (por ejemplo, etiltert-butil, dietil-, diisopropil-, trietil-, tributil- o dimetilpropilamina) o una mono-, di- o trihidroxi alquilamina inferior (por ejemplo, mono-, di- o trietanolamina). Pueden formarse también sales internas. De forma análoga, cuando un compuesto de la presente invención contiene una fracción básica, pueden formarse sales utilizando ácidos orgánicos o inorgánicos. Por ejemplo, pueden formarse
35 sales a partir de los siguientes ácidos: acético, propiónico, láctico, cítrico, tartárico, succínico, fumárico, maleico, malónico, mandélico, málico, ftálico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, metanosulfónico, naftalenosulfónico, bencenosulfónico, toluenosulfónico y canforsulfónico, así como otros ácidos farmacéuticamente aceptables conocidos. Las sales de adición de aminoácidos también se pueden formar con aminoácidos tales como lisina, glicina o fenilalanina.

40 Como es evidente para un experto en la materia médica, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de los péptidos o de las composiciones farmacéuticas de la presente invención variará dependiendo de la edad, el peso y la especie de mamífero tratada, los compuestos particulares empleados, el modo particular de administración y los efectos deseados y la indicación terapéutica. Debido a que estos factores y su relación con la determinación de esta cantidad son bien conocidos en la materia médica, la determinación de los niveles de dosificación terapéuticamente eficaces, la cantidad
45 necesaria para lograr el resultado deseado de prevenir y/o tratar las enfermedades relacionadas con el intestino y el estómago descritas en el presente documento, así como otras indicaciones médicas divulgadas en el presente documento, para inducir el crecimiento longitudinal del intestino, estará dentro del ámbito del experto.

50 Como se utiliza en el presente documento, "una cantidad terapéuticamente eficaz" es aquella que reduce los síntomas de una afección o patología dada y, preferentemente, que normaliza las respuestas fisiológicas en un individuo con la afección o patología. La reducción de los síntomas o la normalización de las respuestas fisiológicas se puede determinar utilizando métodos rutinarios de la materia y pueden variar con una afección o patología dada. En un aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más análogos del GLP-2 o composición farmacéutica que
55 comprende el uno o más análogos del GLP-2 es una cantidad que restaura un parámetro fisiológico medible a sustancialmente el mismo valor (preferentemente dentro del + 30 %, más preferentemente dentro del + 20 %, y aún más preferentemente, dentro del 10 % del valor) del parámetro en un individuo sin la afección o patología.

60 En una realización de la invención, la administración de los compuestos o la composición farmacéutica de la presente invención comienza a niveles de dosificación más bajos, aumentando los niveles de dosificación hasta que se consigue el efecto deseado de prevenir/tratar la indicación médica pertinente, tal como las enfermedades relacionadas con el intestino y el estómago o aumento del crecimiento longitudinal del intestino. Esto definiría una cantidad terapéuticamente eficaz. Ya sea solo o como parte de una composición farmacéutica, las dosis de los análogos del GLP-2 utilizados de acuerdo con la presente invención están normalmente en el intervalo de entre 0,5 mg y 25 mg
65 inclusive por paciente una o dos veces por semana, opcionalmente entre 1 mg y 20 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, opcionalmente entre 1 mg y 10 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana,

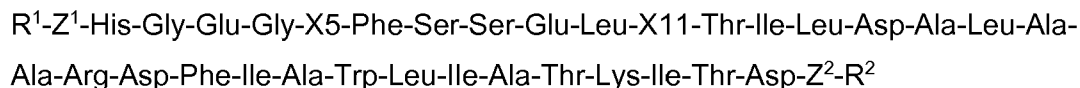
opcionalmente entre 2 mg y 7 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, opcionalmente entre 5 mg y 7 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana, u opcionalmente entre 2 mg y 5 mg inclusive por paciente una o dos veces por semana. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de los análogos del GLP-2 utilizados de acuerdo con la presente invención es de aproximadamente 10 mg por paciente una o dos veces por semana. Sin embargo, el experto en la materia podrá ajustar estas dosis en el caso de que se seleccione un pauta posológica alternativa de acuerdo con la divulgación en el presente documento.

En aspectos de la invención relacionados con la consecución de un mayor crecimiento longitudinal del intestino, preferentemente, el tratamiento con los análogos del GLP-2 de la presente invención aumenta el crecimiento intestinal en al menos un 30 % en comparación con el control, más preferentemente en al menos un 40 % en comparación con el control, y lo más preferentemente en al menos un 50 % en comparación con el control. Generalmente se prefiere que el aumento en el crecimiento longitudinal esté acompañado por un aumento de la capacidad de absorción durante y hasta cierto punto incluso después de que se haya detenido el tratamiento. En el tratamiento de pacientes humanos que necesitan aumentar el crecimiento longitudinal del intestino, tales como pacientes con el síndrome del intestino corto (SBS), generalmente, el tratamiento durará al menos de 1 a 3 años y opcionalmente puede implicar un tratamiento una o dos veces por semana o de acuerdo con otra de las pautas posológicas de la presente invención descritas en el presente documento.

La clase de pacientes humanos con el SBS incluye pacientes que tienen SBS y fallo intestinal (SBS-IF, del inglés "SBS-intestinal failure") y pacientes que están en el límite entre tener SBS e insuficiencia intestinal (SBS-II, del inglés "SBS-intestinal insufficiency") y SBS y fallo intestinal (SBS-IF). En algunos casos, los pacientes que tienen SBS y fallo intestinal (SBS-IF) también se denominan SBS-AP cuando dependen del apoyo parenteral, y los pacientes que tienen SBS-insuficiencia intestinal (SBS-II) también se denominan SBS no AP si no dependen del apoyo parenteral.

El espectro de tipos de pacientes con el SBS se revisa en Jeppensen, Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 38(1), 8S-13S, mayo de 2014, doi: 10.1177/0148607114520994. Se puede hacer una división adicional de los tipos de pacientes con el SBS siguiendo las líneas descritas en Schwartz *et al.*, Clinical and Translational Gastroenterology (2016) 7, e142; doi:10.1038/ctg.2015.69. Esto separa a los pacientes con el SBS en pacientes con respuesta temprana y pacientes con respuesta tardía/lenta. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, los presentes inventores creen que los pacientes con respuesta temprana son los que presentan un efecto inicial en el tratamiento con un análogo del GLP-2 causado por, entre otros efectos, un aumento en el ancho/diámetro del intestino delgado, mientras que los pacientes con respuesta tardía o lenta son los pacientes que mayoritariamente o primero se benefician del tratamiento con un análogo del GLP-2 causado por un aumento en la longitud del intestino delgado. La determinación de si un sujeto es un paciente con respuesta temprana o tardía puede utilizarse para determinar la duración del régimen de tratamiento con el análogo del GLP-2, el momento de cualquier decisión clínica para reducir el apoyo parenteral y el intervalo entre las pruebas para determinar si es posible una reducción del apoyo parenteral. Por consiguiente, en una realización, el paciente es un paciente con respuesta tardía o lenta. La longitud del intestino delgado se puede medir, por ejemplo, mediante un escáner por TC (escáner por tomografía computarizada), IRM (formación de imágenes mediante resonancia magnética), histología, laparoscopia u otras mediciones o técnicas conocidas en la materia.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de un paciente que tiene el SBS e insuficiencia intestinal (SBS-II), en donde el tratamiento previene o retrasa el desarrollo del SBS y del fallo intestinal (SBS-IF), en donde el análogo del GLP-2 está representado por la fórmula:



en donde:

- R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo), acetilo, formilo, benzoílo o trifluoroacetilo; y
- X5 es Ser o Thr;
- X11 es Ala o Ser;
- R² es NH₂ u OH; y
- Z¹ y Z² están independientemente ausentes o son una secuencia peptídica de 1 a 6 unidades de aminoácidos de Lys; o una sal farmacéuticamente aceptable o un derivado del mismo como se establece en las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, el método puede comprender administrar el análogo del GLP-2 al paciente una o dos veces por semana y/o de acuerdo con cualquiera de los otros regímenes de tratamiento descritos en el presente documento.

Para uso terapéutico, el análogo del GLP-2 elegido se formula con un vehículo que es farmacéuticamente aceptable y adecuado para administrar el péptido por la vía de administración elegida. A efectos de la presente invención, las vías parenterales periféricas incluyen las vías de administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e

intraperitoneal. En una realización, la vía de administración es la vía subcutánea o la administración subcutánea. La presente composición farmacéutica comprende un análogo del GLP-2 de la invención, o una sal o un derivado del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados son los que se usan de manera convencional con fármacos basados en péptidos, tales como diluyentes, excipientes y similares.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables para uso terapéutico se conocen bien en la materia farmacéutica y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Por ejemplo, se puede utilizar solución salina estéril y solución salina tamponada con fosfato a pH ligeramente ácido o fisiológico. Los agentes tamponadores del pH pueden ser fosfato, citrato, acetato, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS), ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS), bicarbonato de amonio, dietanolamina, histidina, que es un tampón preferido, arginina, lisina o acetato o mezclas de los mismos. Los intervalos de tampón preferidos son pH de 4 a 8, pH 6,5 a 8, más preferentemente de 7 a 7,5. La composición farmacéutica puede contener conservantes, tales como para-, meta- y orto-cresol, metil- y propilparabeno, fenol, alcohol bencílico, benzoato de sodio, ácido benzoico, benzoato de bencilo, ácido sórbico, ácido propanoico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. La composición farmacéutica puede contener estabilizantes, que evitan la oxidación, la desamidación, la isomerización, la racemización, la ciclación, la hidrólisis peptídica, tales como, por ejemplo, el ácido ascórbico, metionina, triptófano, EDTA, asparagina, lisina, arginina, glutamina y glicina. La composición farmacéutica puede contener estabilizantes para evitar la agregación, la fibrilación y la precipitación, tales como el dodecilsulfato de sodio, polietilenglicol, carboximetilcelulosa y ciclodextrina. La composición farmacéutica puede contener modificadores orgánicos para solubilizar o prevenir la agregación, tales como etanol, ácido acético o acetato y sales de los mismos. La composición farmacéutica puede contener marcadores de isotonicidad tales como sales, por ejemplo, cloruro de sodio o los más preferidos carbohidratos, por ejemplo, dextrosa, manitol, lactosa, trehalosa, sacarosa o mezclas de los mismos.

La composición farmacéutica puede contener detergentes, tales como Tween 20, Tween 80, SDS, poloxámeros, por ejemplo, Pluronic F-68 y Pluronic F-127. La composición farmacéutica puede contener tintes e incluso agentes aromatizantes. En otra realización, se proporciona una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del análogo del péptido GLP-2. Pueden utilizarse agentes de suspensión.

La formulación farmacéutica puede contener modificadores orgánicos, tales como etanol, butanol terciario, 2-propanol, etanol, glicerol y polietilenglicol para la liofilización de un producto liofilizado. La composición farmacéutica puede contener agentes de carga y marcadores de isotonicidad tales como una sal, por ejemplo, cloruro de sodio, hidratos de carbono, por ejemplo, dextrosa, manitol, lactosa, trehalosa, sacarosa o mezclas de los mismos, aminoácidos, por ejemplo, glicina y glutamato, o excipientes tales como cisteína, lecitina o albúmina de suero humano, o mezclas de los mismos, para liofilización.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden formularse y utilizarse como comprimidos, cápsulas o elixires para administración oral; supositorios para administración rectal; preferentemente soluciones estériles o polvos o suspensiones estériles para administración inyectable; y similares. La dosis y el método de administración se pueden adaptar para lograr una eficacia óptima, pero dependerán de factores como el peso, la dieta, la medicación simultánea y otros factores, que los expertos en materia médica reconocerán.

Cuando la administración sea parenteral, tal como intravenosa, subcutánea o intramuscular, las composiciones farmacéuticas inyectables se pueden preparar en formas convencionales, ya sea en forma de soluciones o suspensiones acuosas; liofilizadas, formas sólidas adecuadas para reconstituir inmediatamente antes de su uso o suspensión en líquido antes de la inyección o como emulsiones.

Los diluyentes para la reconstitución del producto liofilizado pueden ser un tampón adecuado de la lista anterior, agua, solución salina, dextrosa, manitol, lactosa, trehalosa, sacarosa, lecitina, albúmina, glutamato de sodio, clorhidrato de cisteína; o agua para inyección con adición de detergentes, tales como Tween 20, Tween 80, poloxámeros, por ejemplo, pluronic F-68 o pluronic F-127, polietilenglicol, y/o con la adición de conservantes tales como para-, meta- y orto-cresol, metil y propilparabeno, fenol, alcohol bencílico, benzoato de sodio, ácido benzoico, benzoato de bencilo, ácido sórbico, ácido propanoico, ésteres de ácido p-hidroxibenzoico, y/o con la adición de un modificador orgánico tal como etanol, ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico o una sal del mismo.

Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas inyectables pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o agentes tamponadores del pH. Se pueden utilizar preparaciones potenciadoras de la absorción (por ejemplo, liposomas, detergentes y ácidos orgánicos).

En una realización de la invención, los compuestos están formulados para su administración mediante infusión, por ejemplo, cuando se utilizan como suplementos nutricionales líquidos para pacientes en terapia de nutrición parenteral total (por ejemplo, neonatos o pacientes que padecen caquexia o anorexia) o mediante inyección, por ejemplo, por vía subcutánea, intraperitoneal o intravenosa, y, en consecuencia, se utilizan como soluciones acuosas en forma estéril y sin pirógenos y opcionalmente tamponadas a un pH fisiológicamente tolerable, por ejemplo, un pH ligeramente ácido o fisiológico. La formulación para la administración intramuscular puede basarse en soluciones o suspensiones en aceite vegetal, por ejemplo, aceite de canola, aceite de maíz o aceite de soja. Estas formulaciones a base de aceite

pueden estabilizarse mediante antioxidantes, por ejemplo, BHA (hidroxianisol butilado) y BHT (hidroxitolueno butilado).

Por lo tanto, los presentes compuestos peptídicos se pueden administrar en un vehículo, tal como agua destilada o en solución salina, solución salina tamponada con fosfato, soluciones de dextrosa al 5 % o aceites. Se puede mejorar la solubilidad del análogo del GLP-2, si se desea, mediante la incorporación de un potenciador de la solubilidad, tal como detergentes y emulsionantes.

El portador o vehículo acuoso se puede complementar para su uso como inyectables con una cantidad de gelatina que sirva para depositar el análogo del GLP-2 en o cerca del sitio de inyección, por su liberación lenta al sitio de acción deseado. Los agentes gelificantes alternativos, tales como ácido hialurónico, también pueden ser útiles como agentes de depósito.

En una realización de la presente invención, la formulación comprende

- a. L-histidina disuelta en agua para obtener concentraciones finales de 0,5 mM a 300 mM, preferentemente de 3 a 200 mM, lo más preferentemente de 20 a 100 mM;
- b. manitol para obtener hasta 350 mM, preferentemente de 30 a 300 mM, lo más preferentemente de 100 mM a 230 mM; y
- c. ácido acético para obtener hasta 200 mM, preferentemente de 0,05 a 100 mM, lo más preferentemente de 0,5 a 50 mM en solución.

Se añade la cantidad adecuada de compuesto terapéutico para obtener concentraciones de 1 a 100 mg/ml, preferentemente de 5 a 50 mg/ml, lo más preferentemente de 10 a 30 mg/ml.

El pH se ajusta al pH final entre 4 y 8, preferentemente de 6,5 a 7,5, lo más preferentemente de 6,7 a 7,3. La solución resultante se ajusta al peso objetivo, se filtra de manera estéril y se dispensa en alícuotas adecuadas en frascos para uso farmacéutico. La formulación se procesa adicionalmente de acuerdo con un producto líquido o un producto liofilizado.

En otra realización de la presente invención, la formulación comprende

- a. L-histidina disuelta en agua para obtener concentraciones finales de 0,5 mM a 300 mM, preferentemente de 3 a 200 mM, lo más preferentemente de 20 a 100 mM de L-histidina;
- b. L-Arginina para obtener hasta 200 mM, preferentemente de 0,5 a 100 mM, lo más preferentemente de 5 a 50 mM;
- c. manitol para obtener hasta 350 mM, preferentemente de 30 a 300 mM, lo más preferentemente de 100 mM a 230 mM; y
- d. ácido acético para obtener hasta 200 mM, preferentemente de 0,05 a 100 mM, lo más preferentemente de 0,5 a 50 mM en solución.

Se añade la cantidad adecuada de compuesto terapéutico para obtener concentraciones de 1 a 100 mg/ml, preferentemente de 5 a 50 mg/ml, lo más preferentemente de 10 a 30 mg/ml.

El pH se ajusta al pH final entre 4 y 8, preferentemente de 6,5 a 7,5, lo más preferentemente de 6,7 a 7,3. La solución resultante se ajusta al peso objetivo, se filtra de manera estéril y se dispensa en alícuotas adecuadas en frascos para uso farmacéutico. La formulación se procesa adicionalmente de acuerdo con un producto líquido o un producto liofilizado.

En aún otra realización de la presente invención, la formulación comprende

- a. L-histidina disuelta en agua para obtener concentraciones finales de hasta 200 mM, preferentemente de 3 a 100 mM, lo más preferentemente de 5 a 50 mM de L-histidina;
- b. L-Arginina para obtener hasta 200 mM, preferentemente de 0,5 a 100 mM, lo más preferentemente de 5 a 50 mM;
- c. manitol para obtener hasta 350 mM, preferentemente de 30 a 300 mM, lo más preferentemente de 100 mM a 230 mM; y
- d. ácido acético para obtener hasta 200 mM, preferentemente de 0,05 a 100 mM, lo más preferentemente de 0,5 a 50 mM en solución.

Se añade la cantidad adecuada de compuesto terapéutico para obtener concentraciones de 1 a 100 mg/ml, preferentemente de 5 a 50 mg/ml, lo más preferentemente de 10 a 30 mg/ml.

El pH se ajusta al pH final entre 4 y 8, preferentemente de 6,5 a 7,5, lo más preferentemente de 6,7 a 7,3. La solución resultante se ajusta al peso objetivo, se filtra de manera estéril y se dispensa en alícuotas adecuadas en frascos para uso farmacéutico. La formulación se procesa adicionalmente de acuerdo con un producto líquido o un producto liofilizado.

En todavía otra realización de la presente invención, la formulación comprende

- a. N-acetato disuelto en agua para obtener concentraciones finales de hasta 200 mM, preferentemente de 0,5 a 100 mM, lo más preferentemente de 5 a 50 mM de L-histidina;
- b. manitol para obtener hasta 350 mM, preferentemente de 30 a 300 mM, lo más preferentemente de 100 mM a 230 mM.

Se añade la cantidad adecuada de compuesto terapéutico para obtener concentraciones de 1 a 100 mg/ml, preferentemente de 5 a 50 mg/ml, lo más preferentemente de 10 a 30 mg/ml.

El pH se ajusta al pH final entre 4 y 8, preferentemente de 6,5 a 7,5, lo más preferentemente de 6,7 a 7,3. La solución resultante se ajusta al peso objetivo, se filtra de manera estéril y se dispensa en alícuotas adecuadas en frascos para uso farmacéutico. La formulación se procesa adicionalmente de acuerdo con un producto líquido o un producto liofilizado.

Los análogos del GLP-2 de la invención también se pueden formular como un dispositivo de implantación de liberación lenta para la administración prolongada y sostenida del análogo del péptido GLP-2. Dichas formulaciones de liberación sostenida pueden tener la forma de un parche colocado externamente en el cuerpo. Los ejemplos de formulaciones de liberación sostenida incluyen compuestos de polímeros biocompatibles, tales como poli(ácido láctico), poli(ácido láctico-co-glicólico), metilcelulosa, ácido hialurónico, ácido siálico, silicato, colágeno, liposomas y similares. Las formulaciones de liberación sostenida pueden ser de particular interés cuando es deseable proporcionar una concentración local elevada de un análogo del GLP-2 de la invención.

El análogo del GLP-2 se puede utilizar en forma de un frasco o ampolla estéril que contiene una cantidad intestinotrófica del péptido, en dosis unitarias o en cantidades multidosis. El frasco o ampolla puede contener el análogo del GLP-2 y el vehículo deseado, como una formulación lista para la administración. Como alternativa, el frasco o ampolla puede contener el péptido GLP-2 en una forma, tal como una forma liofilizada, adecuada para la reconstitución en un vehículo adecuado, tal como agua estéril o solución salina tamponada con fosfato.

Los compuestos peptídicos de la presente invención pueden utilizarse solos o en combinación con compuestos que tienen un efecto antiinflamatorio. Sin pretender imponer ninguna teoría, se prevé que dicho tratamiento de combinación pueda reforzar los efectos beneficiosos del tratamiento de los presentes análogos peptídicos.

La dosificación terapéutica y la pauta más adecuada para el tratamiento del paciente variarán, por supuesto, con la enfermedad o afección a tratar y según los parámetros del paciente. Sin desear quedar ligados a ninguna teoría en particular, se espera que las dosis, entre 0,1 y 25 mg por paciente, y una duración o frecuencia de tratamiento más corta o más larga puedan producir resultados terapéuticamente útiles, tales como un aumento estadísticamente significativo, particularmente en la masa del intestino delgado. En algunos casos, la pauta posológica puede incluir la administración de dosis de mantenimiento adecuadas para prevenir la regresión tisular que se produce tras la interrupción del tratamiento inicial. Los tamaños de dosis y la pauta posológica más adecuados para uso humano pueden guiarse por los resultados obtenidos por la presente invención y pueden confirmarse en ensayos clínicos adicionales.

Un protocolo de dosificación y tratamiento eficaz puede determinarse por medios convencionales, comenzando con una dosis baja en animales de laboratorio y, a continuación, aumentando la dosis mientras se controlan los efectos, así como variando de manera sistemática la pauta posológica. A la hora de determinar una dosificación óptima para un sujeto dado, el clínico puede tener en cuenta numerosos factores. El experto en la materia conoce dichas consideraciones.

Puede utilizarse una dosis en seres humanos de un péptido GLP-2 de acuerdo con la invención en una dosis de entre aproximadamente 0,01 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 0,01 mg/kg y 10 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, entre 10 y 100 µg/kg de peso corporal. En realizaciones adicionales, una dosis en seres humanos (dosis total) de un péptido GLP-2 de acuerdo con la invención puede ser de aproximadamente entre, e incluyendo, 0,1 mg y 25 mg por paciente e incluidos entre 0,5 mg y 20 mg por paciente, tal como entre, e incluyendo, 1 mg y 15 mg por paciente inclusive, tal como entre, e incluyendo, 1 mg y 10 mg por paciente una o dos veces por semana o como una pluralidad de dosis como se define en el presente documento separadas en el tiempo por 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días. En algunos casos, se puede utilizar una dosis fija del péptido GLP-2 de acuerdo con la invención de acuerdo con un patrón de dosificación divulgado en el presente documento, es decir, una dosis que es la misma independientemente del peso corporal del paciente, administrada una o dos veces por semana. A modo de ejemplo, la dosis fija puede ser una dosis de 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg o 15 mg. De manera conveniente, se puede utilizar una dosis fija de 10 mg. El uso de dosis fijas tiene la ventaja de aumentar el cumplimiento y reducir el riesgo de errores de dosificación del paciente, incluidos los riesgos de calcular mal una dosis basada en el peso que se va a administrar.

Afecciones médicas

Los péptidos de la presente invención son útiles como agentes farmacéuticos para prevenir o tratar a un individuo que padece el síndrome del intestino corto (SBS).

La eficacia terapéutica del tratamiento con análogos del GLP-2 puede controlarse mediante biopsia entérica para examinar la morfología de las vellosidades, mediante evaluación bioquímica de la absorción de nutrientes, mediante el aumento de peso del paciente o mediante la mejora de los síntomas asociados con estas afecciones.

- 5 Otra afección particular que puede tratarse con los análogos del GLP-2 de la invención, o para la que los análogos del GLP-2 pueden ser útiles de manera terapéutica y/o profiláctica es el síndrome del intestino corto (SBS), también conocido como síndrome del tubo digestivo corto o simplemente intestino corto) que resulta de una resección quirúrgica, un defecto congénito o una pérdida de absorción en el intestino asociada a una enfermedad en la que los
10 pacientes son posteriormente incapaces mantener el equilibrio de líquidos, electrolitos y nutrientes con una dieta convencional. A pesar de una adaptación que ocurre generalmente en los dos años posteriores a la resección, los pacientes con SBS tienen una ingesta dietética reducida y pérdida de líquidos.

- Una realización adicional de la invención se refiere al uso de los presentes péptidos para aumentar el crecimiento longitudinal del intestino en un paciente, por ejemplo, en un paciente humano. Tal como se muestra en los ejemplos, a continuación, los análogos del GLP-2 de la invención son capaces de aumentar el crecimiento longitudinal del
15 intestino en relación con el control. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, actualmente se cree que la semivida más larga conduce a una estimulación más potente y prolongada de los receptores del GLP-2 que da como resultado un crecimiento longitudinal aumentado en relación con el del control. También es posible que la semivida terminal en plasma más larga de los análogos del GLP-2 utilizados de acuerdo con la presente invención conduzca a una
20 estimulación más potente del crecimiento longitudinal del intestino en comparación con otros análogos del GLP-2 de la materia anterior conocidos por tener semividas relativamente más cortas.

- Esta capacidad es de particular valor en pacientes con el SBS, ya que conducirá a un aumento de la capacidad de absorción también después de interrumpir el tratamiento. Dicho paciente sería tratado durante al menos 1 a 3 años, tal como al menos de 1 a 4 años, tal como de 1 a 10 años, tal como de 1 a 20 años, tal como de 1 a 35 años con el
25 objetivo de inducir el crecimiento longitudinal del intestino.

- Como ya se describió en el presente documento, los pacientes con el SBS que se encuentran en el límite entre la insuficiencia intestinal (SBS-II) o los pacientes con SBS-AP y fallo intestinal (SBS-IF) o SBS sin AP pueden, por lo tanto, tener un valor especial si se les alarga el intestino durante un curso de tratamiento de 1 a 3 años, a partir de lo cual se reduce el riesgo de insuficiencia intestinal, por ejemplo, con una dosificación semanal o de dos veces por semana durante el período de tratamiento. Esto implica un menor riesgo de necesidad de catéter central y el riesgo de sepsis asociado con su uso.

- 35 Las pautas posológicas divulgadas en el presente documento se pueden aplicar al tratamiento de trastornos relacionados con el estómago y el intestino, tales como el SBS, en el que el sujeto del tratamiento recibe apoyo parenteral (AP) mientras recibe tratamiento con los análogos del GLP-2 de acuerdo con la presente invención. El apoyo parenteral implica la administración de nutrición y líquidos a pacientes cuyo tubo gastrointestinal está alterado o comprometido, mientras se tratan con análogos del GLP-2. Sin embargo, uno de los desafíos que enfrentan los
40 pacientes y los médicos en el transcurso de la terapia con GLP-2 se refiere a la determinación de la cantidad o el volumen del AP proporcionado al sujeto tratado y el ajuste adecuado e individualizado de la cantidad o el volumen del AP proporcionado al paciente. En particular, esto es importante porque si la cantidad o el volumen del AP no se ajustan de manera adecuada, los sujetos tratados pueden experimentar una sobrecarga de líquidos, riesgos de deshidratación y es posible que no logren una respuesta clínica óptima con la terapia. Como consecuencia, la presente invención proporciona algoritmos para ajustar la cantidad o el volumen del AP durante un curso de tratamiento utilizando un
45 análogo del GLP-2 como se divulga en el presente documento.

- Por consiguiente, en un aspecto adicional relacionado con el tratamiento, la presente invención proporciona un análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento del síndrome del intestino corto (SBS) en un sujeto humano que recibe una pauta de apoyo parenteral (AP), comprendiendo el método:

- (i) administrar al sujeto un análogo del GLP-2 como se define en el presente documento, en donde el análogo del GLP-2 se administra una o dos veces por semana durante un período de tiempo suficiente para alargar y mejorar la función del intestino delgado del sujeto; y
55 (ii) después de la etapa (i), reducir la frecuencia o la cantidad de la pauta del apoyo parenteral (AP) en respuesta a una función mejorada del intestino delgado.
- (iii) Opcionalmente repetir las etapas (i) y (ii) en respuesta a que el sujeto demuestre una función mejorada continua del intestino delgado.
60

- A modo de ejemplo, el intervalo de tiempo durante el cual se administra el análogo del GLP-2 en la etapa (i) del método es de 18 a 150 semanas, durante 18 a 100 semanas o durante 18 a 52 semanas. Generalmente, la cantidad de función o capacidad de absorción del intestino delgado mejorada es de al menos un 10 %, tal como al menos un 20 %, tal como al menos un 30 %, tal como al menos un 40 %, tal como al menos un 50 %. De manera adicional o alternativa, la cantidad de la reducción del apoyo parenteral es de al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al
65

menos un 40 % o al menos un 50 %. En una realización preferida, la reducción del apoyo parenteral es al menos de un 20 %.

Para ayudar con la determinación de la cantidad o el volumen del AP proporcionado a los sujetos que reciben terapia con GLP-2, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para ajustar un apoyo parenteral (AP) en un sujeto humano que recibe una cantidad o volumen de apoyo parenteral cada semana, comprendiendo el método calcular una nueva cantidad o volumen del AP utilizando un algoritmo en el que una cantidad o volumen del AP para una semana se calcula restando siete veces el aumento absoluto en el volumen de orina diario de un valor de referencia del volumen semanal actual de apoyo parenteral para proporcionar la nueva cantidad o volumen del AP para el sujeto. Preferentemente, el método incluye las etapas iniciales de determinar el volumen inicial y/o determinar el volumen diario de orina. Algunas o todas las etapas del método pueden repetirse durante el transcurso de la terapia con GLP-2 recibida por el sujeto. Preferentemente, el tiempo entre pruebas repetidas para determinar los cambios en los ajustes de volumen del AP es aproximadamente cada 1 a 3 meses. Por ejemplo, en una realización, el método puede utilizarse en las semanas 1, 2, 4, 8 y 12 después del inicio del tratamiento con el análogo del GLP-2, ajustando la cantidad o el volumen del AP en respuesta a los efectos del tratamiento. La cantidad o volumen semanal de AP administrado debe controlarse y ajustarse durante todo el tratamiento con el análogo del GLP-2 (por ejemplo, glepaglutida) para evitar la sobrecarga de líquidos. Generalmente, a medida que aumenta la capacidad de absorción del intestino después del tratamiento con el análogo del GLP-2, normalmente mediante elongación o engrosamiento del intestino delgado, la cantidad o el volumen del AP se puede reducir para evitar la sobrecarga de líquidos y mejorar las necesidades de tratamiento del paciente.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar aspectos preferidos de la invención y no se pretende que limiten el alcance de la invención. Los análogos del GLP-2 administrados de acuerdo con las pautas posológicas descritas en el presente documento se pueden preparar de acuerdo con los métodos tales como la síntesis de péptidos en fase sólida descritos en el documento WO 2006/117565.

Ejemplo 1. Síntesis de metabolitos ZP1848

La síntesis de péptidos en fase sólida se realizó en un sintetizador de péptidos CEM Liberty utilizando química Fmoc estándar. La resina TentaGel S Ram S (1,33 g; 0,25 mmol/g) se hinchó en DMF (10 ml) antes de su uso y se transfirió entre el tubo y el recipiente de reacción utilizando DCM y DMF.

Acoplamiento

Se añadió un Fmoc-aminoácido en DMF/DCM (2:1; 0,2 M; 5 ml) a la resina en una unidad de microondas CEM Discover junto con COMU/DMF (0,5 M; 2 ml) y DIPEA & DMF (2,0 M; 1 ml). La mezcla de acoplamiento se calentó a 75 °C durante 5 min mientras se burbujeaba nitrógeno a través de la mezcla. A continuación, la resina se lavó con DMF (4 × 10 ml). Se utilizó pseudoprolina Fmoc-Phe-Ser(Psi Me,Me,Pro)-OH para los aminoácidos número seis y siete.

Desprotección

Se añadió piperidina/DMF (20 %; 10 ml) a la resina para la desprotección inicial y la mezcla se calentó mediante microondas (30 s; 40 °C). Se drenó el recipiente de reacción y se añadió una segunda porción de piperidina/DMF (20 %; 10 ml) y se calentó de nuevo (75 °C; 3 min). A continuación, la resina se lavó con DMF (6 × 10 ml).

La resina se lavó con EtOH (3 × 10 ml) y Et₂O (3 × 10 ml) y se secó hasta peso constante a temperatura ambiente (t.a.). El péptido en bruto se escindió de la resina mediante tratamiento con TFA/DODT (95/5; 60 ml, 2 h; t.a.). La mayor parte del TFA se eliminó a presión reducida y el péptido en bruto se precipitó y se lavó tres veces con éter dietílico y se secó hasta peso constante a temperatura ambiente.

Purificación por HPLC del péptido en bruto

El péptido en bruto se purificó primero al 45 % mediante HPLC preparativa de fase inversa utilizando una estación de trabajo VISION de PerSeptive Biosystems equipada con una columna Gemini NX 5μ C-18 110A, de 10 × 250 mm y un colector de fracciones y se ejecutó a 35 ml/min con un gradiente de tampón A (TFA al 0,1 %, ac.) y tampón B (TFA al 0,1 %, MeCN al 90 %, ac.). Las fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS y las fracciones relevantes se combinaron y liofilizaron. El producto (143 mg) se purificó por segunda vez con una columna C4 Jupiter 2, de 12 × 25 cm, para producir 27 mg, con una pureza del 89 %, según se caracteriza por HPLC y MS. PM monoisotópico calculado = 3377,61, encontrado 3377,57.

Tabla 1: Compuestos sintetizados

Compuesto	Secuencia
Teduglutida	H-HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD-OH
ZP1848	H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFIWLIATKITDKKKKKK-NH ₂
ZP2949	H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFIWLIATKITDKKK-OH
ZP2711	H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFIWLIATKITDKK-OH
ZP2469	H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFIWLIATKITDK-OH

Ejemplo 2. Mediciones CE50 de GLP-2R5 *Generación de líneas celulares que expresan receptores de GLP-2 humanos*

El hGLP2-R se adquirió de MRC-geneservice, Babraham, Cambridge como un clon de imagen: 5363415 (11924-117). Para subclonar en un vector de expresión de mamífero, los cebadores para la subclonación se obtuvieron de DNA-Technology, Risskov, Dinamarca. Los cebadores en 5' y 3' utilizados para la reacción de PCR incluyen sitios de restricción terminales para la clonación y el contexto del cebador en 5' se modifica a un consenso de Kozak sin cambiar la secuencia del producto codificado por el ORF. Se ejecutó una reacción de PCR estándar utilizando el clon Image 5363415 (11924-117) como plantilla con los cebadores mencionados anteriormente y la polimerasa Herculase II Fusion en un volumen total de 50 µl. El producto de la PCR generado se purificó utilizando GFX PCR y el kit de purificación de banda de gel, digerido con enzimas de restricción y clonado en el vector de expresión de mamífero utilizando el kit de unión rápida de ADN. La reacción de unión se transformó en células XL10 Gold Ultracompetent y las colonias se seleccionaron para la producción de ADN utilizando el kit Endofree Plasmid maxi. El análisis de secuencia posterior fue realizado por MWG Eurofins, Alemania. Se confirmó que el clon era el receptor hGLP-2, variante de empalme rs17681684.

Se transfectaron células HEK293 utilizando el método de transfección Lipofectamine PLUS. El día antes de la transfección, las células HEK293 se sembraron en dos matraces T75 a una densidad de 2×10^6 células/matraz T75 en medio de cultivo celular sin antibióticos. En el día de la transfección, las células se lavaron con DPBS 1x y el medio se reemplazó con Optimem hasta un volumen de 5 ml/matraz T75 antes de añadir suavemente y gota a gota los complejos de lipofectamina y plásmido a las células en los matraces T75 y se reemplazó con medio de crecimiento después de 3 horas y de nuevo con medio de crecimiento complementado con 500 µg/ml de G418 después de 24 horas. Después de 4 semanas en la selección G418, los clones se seleccionaron y probaron en un ensayo funcional. Se seleccionó un clon para su uso en la elaboración de perfiles de compuestos.

Ensayo de eficacia del receptor de GLP-2

Se utilizó el ensayo de cAMP AlphaScreen® de Perkin Elmer para cuantificar la respuesta de cAMP a la activación del receptor GLP2. Se utilizó teduglutida como compuesto de referencia para la activación del receptor de GLP2. Los datos de los compuestos de prueba que provocan un aumento en el nivel intracelular de cAMP se normalizaron con respecto al control positivo (Teduglutida) y negativo (vehículo) para calcular la CE50 y la respuesta máxima a partir de la curva de respuesta a la concentración. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Mediciones CE50 de GLP-2R

N.º de ZP	CE50_media (nM)	CE50_DT (nM)
Teduglutida	0,03	0,019
ZP1848	0,3	0,14
ZP2949	0,11	0,013
ZP2711	0,072	0,0076
ZP2469	0,052	0,0057
ZP1846	0,26	

Ejemplo 3: Perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos de análogos del GLP-2

Se llevó a cabo un ensayo clínico de fase 2 para, es decir, se determinó el perfil PK de ZP1848 y de sus metabolitos en pacientes humanos con SBS.

Método

El estudio fue diseñado como aleatorizado, cruzado y con ocultación doble con tres dosis diferentes de ZP1848 (10 mg, 1 mg, 0,1 mg) en 16 pacientes con SBS.

El protocolo del estudio fue aprobado por la Agencia Médica Danesa y el Comité Danés de Ética en Investigación en Salud.

Los 18 pacientes con SBS (16 pacientes completaron el estudio) fueron asignados al azar de manera uniforme y con ocultación doble a cada una de las seis combinaciones de niveles de dosis cruzadas: 10 mg/1 mg, 10 mg/0,1 mg, 1 mg/10 mg, 1 mg/0,1 mg, 0,1 mg/10 mg, 0,1 mg/1 mg de ZP1848. Se inyectaron a los pacientes una vez al día (q.d.) por vía subcutánea con las dosis anteriores de ZP1848.

Se recogieron muestras de sangre para el análisis PK en varias visitas de estudio durante el período de estudio: el estudio comprendió un 1^{er} estudio de equilibrio inicial (4 días), un 1^{er} período de tratamiento (21 días) que incluye un 1^{er} estudio de equilibrio del tratamiento (últimos 4 días del 1^{er} período de tratamiento), seguido de un período de lavado (al menos 4 semanas); y un 2^o estudio de equilibrio inicial (4 días), un 2^o período de tratamiento (21 días) que incluye un 2^o estudio de equilibrio del tratamiento (últimos 4 días del 2^o período de tratamiento) y un período de seguimiento (al menos 4 semanas).

El muestreo PK se realizó en la visita 11 (1^{er} tratamiento, estudio de equilibrio) y en la visita 17 (segundo día del 2^o estudio inicial - después de un período de lavado), y de nuevo en la visita 25 (2^o estudio de equilibrio del tratamiento) y en la visita 29 (último día del período de seguimiento).

En la visita del día 11 y el día 25 se investigó un perfil PK completo en estado estable. Se tomaron muestras de PK antes de la inyección de ZP1848 y en los siguientes puntos temporales (± 10 minutos) después de la administración del producto de prueba: 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h y 24 h. Cada muestra de PK contenía 2 ml de sangre, dando como resultado un total de 46 ml de sangre extraída con fines PK. La muestra de plasma se almacenó inmediatamente a -80°C después del muestreo.

Las muestras de plasma se analizaron después de la extracción mediante inmunoafinidad seguida de espectrometría de masas por cromatografía líquida (LC-MS/MS). Para cada paciente, las concentraciones plasmáticas se utilizaron para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos utilizando el enfoque no compartimental en Excel. La semivida de eliminación terminal plasmática ($T_{1/2}$) se determinó como $\ln(2)/k_e$ donde k_e es la magnitud de la pendiente de la regresión lineal logarítmica del perfil logarítmico de la concentración frente al tiempo durante la fase terminal.

Resultados

Cuando se inyecta ZP1848 en el compartimento s.c. (subcutáneo), se forman dos metabolitos funcionalmente activos (ZP2469 y ZP2711, ambos análogos truncados carboxiterminales de glepaglutida, ZP1848). Por tanto, el perfil PK global de ZP1848 comprende el efecto de ZP1848 y sus dos metabolitos principales.

Ambos metabolitos son farmacológicamente activos, como se muestra anteriormente, con una potencia *in vitro* comparable a la de ZP1848. El nivel en plasma de ZP2711 está en el mismo intervalo que el de ZP1848, mientras que el nivel en plasma de ZP2469 es varias veces mayor que el de ZP1848. Como consecuencia, es necesario incluir ambos metabolitos al evaluar la exposición sistémica, ya que ambos contribuyen a la eficacia *in vivo*.

Debido al alto nivel en plasma de ZP2469, este compuesto tiene un nivel en plasma por encima del límite de detección bioanalítica (50 pM para ZP2469, 25 pM para ZP1848 y ZP2711), por lo que es posible determinar la semivida del compuesto ZP2469. Una semivida terminal en plasma de entre 5 y 17 días, como se muestra en la tabla, sugiere que una dosificación semanal de ZP1848 sería eficaz.

Tabla 3: Resultados PK del ensayo clínico de fase 2

Sujeto	Compuesto	Día	N.º de visita	Conc. pM	Semivida (días)
1003	ZP2469	0	25	4490	7,2
1003	ZP2469	32	29	209	
1007	ZP2469	0	25	14700	7,2
1007	ZP2469	36	29	460	
1008	ZP2469	0	11	6770	9,5
1008	ZP2469	56	17	116	
1010	ZP2469	0	11	4340	11
1010	ZP2469	56	17	112	
1013	ZP2469	0	25	4940	9,6
1013	ZP2469	35	29	394	
1014	ZP2469	0	11	2220	5,2
1014	ZP2469	28	17	52,8	
1015	ZP2469	0	11	556	7,9
1015	ZP2469	28	17	56,4	
1015	ZP2469	0	25	3640	8,7

(continuación)

Sujeto	Compuesto	Día	N.º de visita	Conc. pM	Semivida (días)
1015	ZP2469	32	29	288	
1016	ZP2469	0	11	4750	11
1016	ZP2469	49	17	236	
1018	ZP2469	0	25	4660	8,7
1018	ZP2469	40	29	195	
1020	ZP2469	0	11	1040	12
1020	ZP2469	35	17	133	
1013	ZP2711	0	11	131	14
1013	ZP2711	28	17	32,6	
1015	ZP2711	0	25	543	10
1015	ZP2711	32	29	61,4	

Ejemplo 4: Crecimiento longitudinal mediante la administración subcutánea de ZP1848 a perros Beagle durante 39 semanas seguido de un período de recuperación de 6 semanas

Método

Se administró ZP1848 (0,25, 1 o 5 mg/kg/día) durante 39 semanas por vía subcutánea a perros Beagle (22 a 24 semanas). El vehículo se utilizó como control. La recuperación de cualquier efecto se evaluó durante un período de recuperación de 6 semanas. El estudio se llevó a cabo de conformidad con las secciones aplicables de la Ley de 1986 sobre animales (procedimientos científicos) del Reino Unido, Modificación del Reglamento de 2012 (la Ley).

Después de 39 semanas, los perros se sacrificaron y todos los animales se sometieron a una necropsia detallada. La longitud de los intestinos delgado y grueso se midió por separado y se registró en centímetros. Se eliminó toda la longitud del tubo gastrointestinal (comenzando en el duodeno y terminando en el recto) y se recortó cualquier exceso de mesenterio, tejido conjuntivo o adiposo y se registraron las medidas del intestino delgado y grueso colocando el intestino delgado y el intestino grueso sobre una superficie limpia y midiéndolos con una cinta métrica. Las secciones necesarias para la histopatología se dejaron sin abrir y se enjuagaron con agua. El resto se abrió, se limpió con agua y se secó cuidadosamente antes de pesar. Al completar las mediciones de longitud y peso, el tubo gastrointestinal se procesó y fijó en formalina tamponada neutra al 10 %, según la práctica estándar de necropsia para esta especie.

Resultados

Hubo un aumento en la longitud del intestino delgado después de 39 semanas de tratamiento con todas las dosis y en ambos sexos, siendo mayor el grado de aumento en machos y hembras que recibieron 5 mg/kg/día, donde hubo un aumento del 46 % y del 37 % en machos y hembras, respectivamente. Este hallazgo se había recuperado parcialmente al final del período de recuperación de seis semanas, con aumentos del 16 y del 19 % de los controles en hombres y mujeres, respectivamente. En el mismo estudio, un aumento del peso del intestino delgado después de 39 semanas de tratamiento con todas las dosis y en ambos sexos, siendo mayor el grado de aumento en machos y hembras que recibieron 5 mg/kg/día, donde hubo un aumento del 103 % y del 80 % en machos y hembras, respectivamente. Este hallazgo se había recuperado parcialmente al final del período de recuperación de seis semanas, con aumentos del 78 y del 34 % de los controles en hombres y mujeres, respectivamente.

Ejemplo 5: Un ensayo parcialmente aleatorizado, de fase 1, abierto, de 3 partes, de grupos paralelos para evaluar el perfil farmacocinético de glepaglutida (ZP1848) después de una única inyección intravenosa y después de múltiples inyecciones subcutáneas en sujetos humanos sanos

Se realizó un ensayo clínico de fase 1 para caracterizar los perfiles farmacocinéticos (PK) de glepaglutida (ZP1848) y sus metabolitos activos primarios después de inyecciones subcutáneas (s.c.) una vez a la semana y una vez al día y después de una única infusión intravenosa (i.v.) en sujetos sanos. Esto incluyó la evaluación de los efectos farmacodinámicos sobre los niveles en plasma de la citrulina después de la administración s.c. en sujetos sanos. El ensayo confirmó la viabilidad de las pautas posológicas en las que se administran análogos del GLP-2 a los pacientes en pautas posológicas semanales y se comparan las pautas posológicas semanales con la dosificación diaria.

Diseño del ensayo:

El diseño del ensayo fue de un solo centro, sin enmascaramiento, parcialmente aleatorizado, de 3 partes, de grupo paralelo para caracterizar el perfil PK de la glepaglutida administrada mediante inyección s.c. una vez al día durante 7 días (Parte 1), Inyección s.c. una vez a la semana durante 6 semanas (Parte 2) y como infusión i.v. única (Parte 3) en sujetos sanos.

En la parte 1, los sujetos elegibles se asignaron al azar 1:1 al grupo A o B; en la parte 2, los sujetos elegibles se asignaron al azar 1:1 al grupo C o D; a todos los sujetos de la parte 3 (Grupo E) se les asignó el mismo nivel de dosis.

Número de sujetos:

5 Se inscribieron aproximadamente 75 sujetos masculinos y femeninos, con 15 sujetos en cada uno de los 5 grupos de dosis, para asegurar que al menos 12 sujetos completaran cada grupo.

Diagnóstico y principales criterios de inclusión:

10 Sujetos sanos de sexo masculino y femenino de entre 18 y 60 años, ambos inclusive, con un índice de masa corporal (IMC) entre 18,0 y 30,0 kg/m², inclusive, y preferentemente los sujetos tienen un IMC de $\leq 25,0$ kg/m².

Productos de prueba, dosis y modo de administración:

15 Se suministró glepaglutida como una solución acuosa a concentraciones de 2 y 10 mg/ml.

Grupo A: 1 mg de glepaglutida una vez al día, administrada como inyecciones s.c. únicas en los días 1 a 7.

Grupo B: 5 mg de glepaglutida una vez al día, administrada como inyecciones s.c. únicas en los días 1 a 7.

20 **Grupo C:** 5 mg de glepaglutida una vez a la semana, administrada como inyecciones s.c. únicas los días 1, 8, 15, 22, 29 y 36.

Grupo D: 10 mg de glepaglutida una vez a la semana, administrada como inyecciones s.c. únicas los días 1, 8, 15, 22, 29 y 36.

Grupo E: 1 mg de glepaglutida, administrada como una infusión i.v. a una velocidad de 4 mg/h durante 15 minutos el día 1.

Duración del tratamiento

Duración planificada de la selección: aproximadamente 28 días

Duración total (desde la selección hasta el final del ensayo):

30 Grupos A y B: 71 días
Grupos C y D: 100 días
Grupo E: 51 días

*Criterios de evaluación:**Farmacocinética:*

40 Se recogieron muestras de sangre para el análisis de las concentraciones en plasma de la glepaglutida y sus metabolitos activos primarios, ZP2469 (ZP1848₁₋₃₄) y ZP2711 (ZP1848₁₋₃₅); las muestras se analizaron utilizando métodos analíticos validados. Las siguientes estimaciones de los parámetros PK se calcularon utilizando métodos estándar no compartimentales: la semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$), la eliminación en el cuerpo total del fármaco después de la administración i.v. (CL; dosis i.v., fármaco original solamente), la eliminación total aparente (CL/F; dosis s.c., fármaco original solamente), el volumen de distribución en estado estacionario (V_{ss} ; dosis i.v., fármaco original solamente), el volumen aparente de distribución en estado estacionario (V_{ss}/F ; dosis s.c., fármaco original solamente), el volumen de distribución (V_z ; dosis i.v., fármaco original solamente), el volumen aparente de distribución (V_z/F ; dosis s.c., fármaco original solamente), la concentración en plasma máxima observada ($C_{m\acute{a}x}$), el área bajo la curva (ABC) de la concentración en plasma-tiempo durante un intervalo de dosificación (ABC_T), el ABC desde el momento cero al infinito (ABC_{inf}), el ABC desde el momento cero hasta el momento de la última concentración medible ($ABC_{\acute{u}ltima}$) y el tiempo de la concentración en plasma máxima observada ($t_{m\acute{a}x}$). Exposición a metabolitos (basado en la $C_{m\acute{a}x}$, el ABC_T y el ABC_{inf}) se determinó para cada grupo como una proporción de los 2 metabolitos activos primarios, ZP2469 (ZP1848₁₋₃₄) y ZP2711 (ZP1848₁₋₃₅), en relación con el fármaco original glepaglutida.

Farmacodinámica:

55 Se recogieron muestras de sangre para la medición de la citrulina en plasma (solo para dosis s.c.).

*Métodos estadísticos:**Farmacocinética:*

60 Las estimaciones de los parámetros PK de glepaglutida, ZP2469 (ZP1848₁₋₃₄) y ZP2711 (ZP1848₁₋₃₅) se enumeraron y resumieron utilizando estadísticas descriptivas estándar. Los parámetros PK primarios son $t_{1/2}$ para glepaglutida, ZP2469 (ZP1848₁₋₃₄) y ZP2711 (ZP1848₁₋₃₅); y CL (dosis i.v.), CL/F (dosis s.c.), V_{ss} (dosis i.v.), V_{ss}/F (dosis s.c.), V_z (dosis i.v.) y V_z/F (dosis s.c.) para glepaglutida. La semivida se calcula como $LN(2)/k_e$ donde $+k_e$ es una estimación a partir de la pendiente de la parte terminal de la curva de LN(concentración) frente al tiempo, con regresiones repetidas de los valores de LN(concentración) utilizando los últimos tres puntos con concentraciones distintas de cero,

después los últimos cuatro puntos, últimos cinco puntos, etc. No se incluyen los puntos con un valor de concentración de cero. Los puntos antes de la $C_{\text{máx}}$ no se utilizan. Para cada regresión, se calcula un R^2 ajustado: $R^2_{\text{ajustado}} = 1 - ((1-R^2) \times (n-1))/(n-2)$; donde n es el número de puntos de datos en la regresión y R^2 es el cuadrado del coeficiente de correlación. k_e utilizando la regresión con el R^2 ajustado más grande y, 1) Si el R^2 ajustado no mejora, pero está dentro de 0,0001 del valor de R^2 ajustado más grande, se utiliza la regresión con el mayor número de puntos. 2) k_e debe calcularse a partir de al menos tres puntos de datos. 3) La pendiente estimada debe ser negativa, para que su k_e negativo sea positivo. Los resultados de los cálculos realizados con datos preliminares se muestran en la tabla 4, mientras que los resultados de los cálculos con el conjunto de datos final completo se muestran en la tabla 5.

10 Farmacodinámica:

Las concentraciones en plasma de citrulina y los cambios con respecto al valor inicial se enumeraron y resumieron utilizando estadísticas descriptivas.

15 Resultados:

Los resultados y análisis iniciales para una selección de sujetos inscritos en los grupos A, B, C y D encontraron que ZP2469 tenía una semivida en horas como se muestra en la tabla 4 a continuación. La semivida encontrada utilizando una dosificación semanal apoya la viabilidad de utilizar la dosificación de los péptidos GLP-2 de la presente invención una vez a la semana o dos veces por semana.

Tabla 4: Resultados preliminares de la semivida

		N.º de dosis		
		1	6	7
Grupo	N.º de Sujeto	Semivida de ZP2469 (h)		
A	101			20
	Una vez al día	104		95
		105		76
		109		36
		110		33
		112		87
B	102			94
	Una vez al día	103		75
		106		108
		107		209
		108		59
		111		139
C	201	38	11	
	Una vez a la semana	203	100	17
		204	17	16
		208	38	32
		209	48	40
		212	20	22
D	202	56	60	
	Una vez a la semana	205	52	55
		206	38	74
		207	43	34
		211	34	58

Una vez que se completó el estudio, se dispuso de un conjunto de datos final más completo y también se utilizó para calcular la semivida. La semivida calculada en el período de tiempo específico de 72 a 168 horas después de la administración (independientemente del valor de R^2 ajustado y del número de puntos de datos) para el metabolito ZP2469 se muestra en la tabla 5 a continuación.

Tabla 5: Resultados finales de la semivida

		Número de dosis		
		1	6	7
Grupo	Sujeto	Semivida de ZP2469 en el intervalo de 72 a 168 horas después de la dosis (h)		
A	105			75
	112			87
	una vez al día	115		94
		119		80
		125		54
		126		57

(continuación)

		Número de dosis		
		1	6	7
Grupo	Sujeto	Semivida de ZP2469 en el intervalo de 72 a 168 horas después de la dosis (h)		
B	102			42
5 mg	103			168
una vez al día	106			77
	107			101
	108			53
	111			101
	114			34
	116			46
	122			100
	123			94
	127			40
	128			84
	129			50
C	203	329	26	
5 mg	204	41	35	
una vez a la semana	208	38	59	
	209	48	94	
	212	59	75	
	213	48	57	
	214	61	43	
	216	ND	52	
	219	217	107	
	221	45	33	
	222	39	68	
	225	ND	47	
	226	91	65	
	229	75	452	
D	202	66	60	
10 mg	205	54	55	
una vez a la semana	206	120	74	
	207	36	58	
	210	46	ND	
	211	35	70	
	215	60	59	
	217	26	30	
	218	158	102	
	220	53	53	
	223	43	60	
	224	33	42	
	227	45	48	
	228	43	56	
	230	38	17	

Ejemplo 6: Efectos intestinotróficos de la glepaglutida después de la exposición crónica en ratas5 *Métodos:*

A las ratas Wistar se les administró una dosis subcutánea (s.c.) con vehículo, de 1, 3 y 10 mg/kg de ZP1848 diariamente durante 26 semanas. A otros subgrupos de animales de control y de dosis elevada se les permitió un período de recuperación de 6 semanas después de completar el período de dosificación. A los subgrupos de animales de control y de dosis elevada se les permitió un período de recuperación de 6 semanas después de completar el período de dosificación. La longitud y el peso de los intestinos delgado y grueso se midieron en la necropsia como indicadores de efectos intestinotróficos y se evaluó de manera histológica el tubo intestinal.

Resultados:

15

ZP1848 indujo aumentos significativos ($p < 0,01$) asociados con la dosis en la longitud y el peso del intestino delgado en ratas (véase la tabla 5). Además, la longitud y el peso del intestino grueso también aumentaron ligeramente. ZP1848 produjo un aumento asociado con la dosis en la hiperplasia de la mucosa del duodeno, yeyuno e íleon. Cabe destacar que, al final del período de recuperación todavía estaban presentes efectos intestinotróficos significativos en los grupos

con dosis elevadas, aunque se observó una recuperación parcial.

Tabla 6: Aumento porcentual (%) en relación con el grupo de control (machos/hembras)

	Animales del estudio principal	Animales de recuperación
Dosis (mg/kg)	10	10
Longitud ID	38/47	39/45
Peso ID	190/238	85/101
ID = intestino delgado		

5 Conclusión:

Se observó un efecto intestinotrófico significativo asociado con la dosis después de 26 semanas de exposición a ZP1848 en ratas. También se observó un efecto similar después de 7 días de dosificación en ratas. En todas las dosis en el estudio de 26 semanas, se observó un aumento de longitud y peso, así como un engrosamiento macroscópico e hipertrofia de las vellosidades, en todos los segmentos del intestino delgado. Estos hallazgos todavía estaban presentes después de un período de recuperación de 6 semanas, lo que indica efectos intestinotróficos prolongados de la glepaglutida.

Ejemplo 7: Cambios absolutos en el peso húmedo de la producción absoluta fecal en pacientes con SBS-IF/SBS-II

Método

El estudio fue diseñado como aleatorizado, cruzado y con ocultación doble con tres dosis diferentes de ZP1848 (10 mg, 1 mg, 0,1 mg) en 16 pacientes con SBS. El protocolo del estudio fue aprobado por la Agencia Médica Danesa y el Comité Danés de Ética en Investigación en Salud.

Los 18 pacientes con SBS fueron asignados al azar de manera uniforme y con ocultación doble a cada una de las seis combinaciones de niveles de dosis cruzados: 10 mg/1 mg, 10 mg/0,1 mg, 1 mg/10 mg, 1 mg/0,1 mg, 0,1 mg/10 mg, 0,1 mg/1 mg de ZP1848. El grupo de pacientes con SBS estaba compuesto por 9 mujeres y 9 hombres; de los cuales 13 pacientes padecían SBS-IF y 5 pacientes SBS-II. La edad media fue de 62 años, la longitud media del intestino corto fue de 110 cm, y dos pacientes con SBS-IF tenían >50 % del colon en continuidad. Se inyectaron a los pacientes una vez al día por vía subcutánea con las dosis anteriores de ZP1848.

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de ZP1848 sobre el peso húmedo de la producción fecal en pacientes con SBS-II y SBS-IF y, por lo tanto, el cambio absoluto desde el valor inicial en el peso húmedo de la producción fecal según lo medido por estudios de equilibrio metabólico antes y en la últimos 3 días de cada período de tratamiento.

Resultados:

De los 18 pacientes asignados al azar y tratados con ZP1848, 16 completaron el ensayo. Los cambios de resultados en el peso húmedo de la producción absoluta fecal (g/día) se muestran en la siguiente tabla 7. Las mejoras fueron de la misma magnitud en todos los grupos de pacientes, es decir, SBS-II, SBS-IF y pacientes con colon en continuidad. Esto demuestra que ZP1848 es eficaz para el tratamiento de ambas clases de pacientes con SBS. Además, los presentes inventores creen que estos resultados apoyan que la terapia con análogos del GLP-2 utilizando ZP1848 es eficaz para prevenir o tratar que los pacientes con SBS-II se conviertan en SBS-IF.

Tabla 7: Cambios en el peso húmedo de la producción absoluta fecal, SBS-II frente a SBS-IF

Cambios en el peso húmedo de la producción absoluta fecal (g/día) (medias [IC al 95 %])	0,1 mg	1 mg	10 mg	1 mg+10 mg
II +IF (n = 16)	173 [-160, 506] p = 0,274	-592 [-913, -272] p = 0,002	-833 [-1152, -515] p = 0,0002	-713 [-935, -490] p <0,0001
IF (n=11)	196 [-301, 693] p = 0,3575	-587 [-1080, -95] p = 0,0280	-894 [-1420, -368] p = 0,0072	-741 [-1079, -402] p = 0,0025
II (n=5)	-37 [-873, 800] p = 0,9094	-303 [-1310, 704] p = 0,4503	-837 [-1495, -178] p = 0,0243	-570 [-1459, -45] p = 0,0393

Aunque la invención se ha descrito en conjunto con las realizaciones de ejemplo descritas anteriormente, muchas modificaciones y variaciones equivalentes serán evidentes para los expertos en la materia cuando reciban la presente divulgación. Por consiguiente, las realizaciones ilustrativas expuestas de la invención se consideran como ilustrativas y no limitantes.

REIVINDICACIONES

1. Un análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento del síndrome del intestino corto (SBS) en un sujeto humano que recibe una pauta de apoyo parenteral (AP), en donde el tratamiento comprende ajustar el volumen del apoyo parenteral (AP) cada semana mediante:

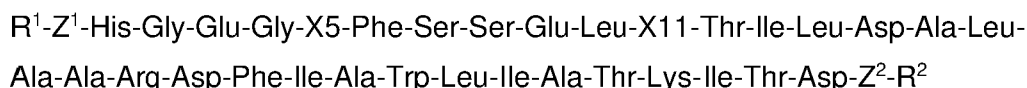
- (i) administrar al sujeto un análogo del GLP-2 durante un tiempo suficiente para hacer crecer y/o mejorar la función del intestino delgado del sujeto;
- (ii) después de la etapa (i), reducir el volumen de la pauta del apoyo parenteral (AP) en respuesta a la mejora de la función del intestino delgado; y
- (iii) opcionalmente repetir las etapas (i) y (ii) en respuesta a que el sujeto demuestre una mejora de la función con el tiempo como resultado de un mayor crecimiento del intestino delgado;

en donde en el método anterior, la etapa (ii) comprende las etapas de:

- (a) determinar el volumen del AP semanal actual requerido por el sujeto en ese momento del tratamiento;
- (b) medir el volumen de orina actual producido por el sujeto y compararlo con el volumen de orina de referencia determinado al inicio del tratamiento con GLP-2 para determinar el aumento absoluto de la producción de orina al día; y
- (c) reducir el volumen del AP cuando el sujeto demuestre una mejora de la función del intestino delgado, indicada por un aumento absoluto de la producción de orina al día; en donde el nuevo volumen del AP semanal reducido calculado para el sujeto es igual al volumen del AP semanal actual menos 7 veces el aumento absoluto del volumen de orina diario con respecto al valor de referencia; en donde el método comprende administrar al sujeto el volumen del AP calculado; y en donde el método comprende una etapa inicial de determinación del volumen de orina de referencia y/o determinación del volumen de orina diario del sujeto.

2. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el volumen del AP se reduce si el volumen de orina diario es al menos un 10 % mayor que el volumen de orina de referencia.

3. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el tratamiento con GLP-2 comprende administrar al sujeto un análogo del GLP-2 representado por la fórmula:



en donde:

- R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo), acetilo, formilo, benzoílo o trifluoroacetilo;
- X5 es Ser o Thr;
- X11 es Ala o Ser;
- R² es NH₂ u OH; y
- Z¹ y Z² están independientemente ausentes o son una secuencia peptídica de 1 a 6 unidades de aminoácidos de Lys; o una sal o un derivado farmacéuticamente aceptables del mismo.

4. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende administrar el análogo del GLP-2 al paciente una o dos veces a la semana.

5. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende repetir la etapa de cálculo con el algoritmo en uno o más momentos durante el curso del tratamiento con GLP-2 recibido por el sujeto.

6. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende determinar el volumen de orina diario de referencia al inicio del tratamiento con GLP-2 y calcular el nuevo volumen del AP en los 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días siguientes al inicio del tratamiento con GLP-2.

7. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende determinar un volumen de orina diario de referencia al inicio del tratamiento con GLP-2 y calcular el nuevo volumen del AP 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 semanas después del inicio del tratamiento con GLP-2.

8. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde se reduce el riesgo de acontecimiento adverso de un volumen elevado del AP, opcionalmente en donde el acontecimiento adverso es la sobrecarga de líquidos.
9. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en donde X5 es Thr y/o X11 es Ala.
10. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con la reivindicación 9 que es:
- ZP1848 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKKKKKK-NH₂,
 ZP2949 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKKK-OH,
 ZP2711 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKK-OH,
 ZP2469 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDK-OH,
 ZP1857 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITD-NH₂ o
 ZP2530 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITD-OH.
11. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 10 que es:
- 1848 H-HGEGTFSSSELATILDALAARDFAWLIATKITDKKKKKK-NH₂
12. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en donde X5 es Ser y/o X11 es Ser.
13. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con la reivindicación 12 que es:
- ZP1846 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITDKKKKKK-NH₂,
 ZP1855 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITD-NH₂ o
 ZP2242 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITDK-OH.
14. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con la reivindicación 13 que es:
- 1846 H-HGEGSFSSSELSTILDALAARDFAWLIATKITDKKKKKK-NH₂
15. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende administrar el análogo del GLP-2 en una dosis fija de 2 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg o 15 mg, una o dos veces por semana.
16. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende administrar el análogo del GLP-2 en una dosis fija de 10 mg, una o dos veces por semana.
17. El análogo del péptido 2 similar al glucagón (GLP-2) para su uso en un método para el tratamiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde el método comprende administrar el análogo del GLP-2 en una dosis fija de 2 mg una o dos veces por semana.