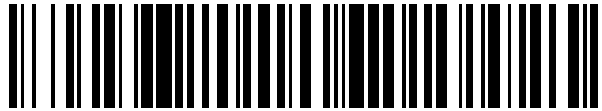


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 599**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.08.2009 E 09805288 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.12.2014 EP 2320923**

54 Título: **Análogos truncados de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa**

30 Prioridad:

02.12.2008 US 200628 P
07.08.2008 US 188192 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.02.2015

73 Titular/es:

IPSEN PHARMA S.A.S. (100.0%)
65, Quai Georges Gorse
92100 Boulogne-Billancourt, FR

72 Inventor/es:

DONG, ZHENG, XIN;
SHEN, YEELANA y
DEOLIVEIRA, DANIEL, B.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 528 599 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

Análogos truncados de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al área de los nuevos análogos de compuestos insulínicos dependientes de glucosa, a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos, y al uso de dichos compuestos como agonistas o antagonistas del receptor de GIP para el tratamiento de trastornos mediados por el receptor de GIP, tales como la diabetes mellitus no insulínica y la obesidad.

Antecedentes de la técnica

10 El polipéptido insulínico dependiente de glucosa ("GIP", también conocido como "polipéptido inhibidor gástrico") es un péptido de 42 restos segregado por las células K enteroendocrinas del intestino delgado hacia la corriente sanguínea en respuesta a la ingestión oral de nutrientes. El GIP inhibe la secreción del ácido gástrico, y se ha demostrado que es un potente estimulante para la secreción de insulina desde las células beta pancreáticas después de la ingestión oral de glucosa (el "efecto incretina") (Creutzfeldt, W., et al., 1979, *Diabetologia*, 16:75-85).

15 La liberación de insulina inducida por la ingestión de glucosa y otros nutrientes es debida a factores hormonales y neurales (Creutzfeldt, W., et al., 1985, *Diabetologia*, 28:565-573). Varios péptidos reguladores gastrointestinales han sido propuestos como incretinas, y entre estos candidatos, solo GIP y el péptido 1 similar al glucagón 1 ("GLP-1") parecen cumplir los requisitos de ser considerados estimulantes fisiológicos de la liberación de insulina postprandial (Nauck, et al., 1989, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 69:654-662). Se ha demostrado que los efectos combinados de GIP y GLP-1 son suficientes para explicar el efecto total de la incretina del eje enteroinsular (Fehmman, H. C., et al., 20 1989, *FEBS Lett.*, 252:109-112).

Tal como saben los expertos en la técnica, los usos conocidos y potenciales del GIP son variados y múltiples. Así, la administración de los compuestos de esta invención para inducir un efecto agonista puede tener el mismo efecto y uso que el propio GIP. Estos usos variados del GIP pueden resumirse como sigue: tratar una enfermedad 25 seleccionada del grupo que consiste en diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2 (Visboll, T., 2004, *Dan. Med. Bull.*, 51:364-70), resistencia a la insulina (documento WO 2005/082928), obesidad (Green, B. D., et al., 2004, *Current Pharmaceutical Design*, 10:3651-3662), trastorno metabólico (Gault, V. A., et al., 2003, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 308:207-213), enfermedad del sistema nervioso central, enfermedad neurodegenerativa, insuficiencia cardíaca congestiva, hipoglucemia, y trastornos en los que se desea la reducción de la ingesta de alimento y la pérdida de peso. En los islotes pancreáticos, el GIP no solo potencia intensamente la secreción de insulina, sino que 30 también estimula la producción de insulina a través de la potenciación de la transcripción y la traducción de proinsulina (Wang, et al., 1996, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 116:81-87) y potencia el crecimiento y la supervivencia de las células beta pancreáticas (Trumper, et al., 2003, *Diabetes*, 52:741-750). Además de los efectos sobre el páncreas para potenciar la secreción de insulina, el GIP también tiene efectos sobre los tejidos diana de la insulina directamente para disminuir la glucosa plasmática: la potenciación de la captación de glucosa en tejido adiposo 35 (Eckel, et al., 1979, *Diabetes*, 28:1141-1142) y el músculo (O'Harte, et al., 1998, *J. Endocrinol.*, 156:237-243), y la inhibición de la producción de glucosa hepática (Elahi, D., et al., 1986, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 65:A18).

Además, un antagonista del receptor de GIP según la presente invención inhibe, bloquea o reduce la absorción de glucosa desde el intestino de un animal. Según esta observación, pueden emplearse composiciones terapéuticas 40 que contengan antagonistas de GIP en pacientes con diabetes mellitus no insulínica para mejorar la tolerancia a la glucosa oral en mamíferos, tales como seres humanos, para prevenir, inhibir o reducir la obesidad inhibiendo, bloqueando o reduciendo la absorción de glucosa desde el intestino del mamífero.

Sin embargo, el uso de GIP no modificado como producto terapéutico es limitado debido a la corta semivida *in vivo* de aproximadamente 2 minutos (Said y Mutt, 1970, *Science*, 169:1217-1218). En suero, ambas incretinas, GIP y GLP-1, son degradadas por la dipeptidil peptidasa IV ("DPPIV"). La mejora en la estabilidad de GIP frente a la 45 proteólisis no solo mantiene la actividad de GIP en su receptor sino que, de modo más importante, evita la producción de fragmentos de GIP, algunos de los cuales actúan como antagonistas del receptor de GIP (Gault, et al., 2002, *J. Endocrinol.*, 175:525-533). Las modificaciones indicadas han incluido la protección del N-terminal de GIP frente a la proteólisis por DPPIV a través de la modificación de la tirosina N-terminal (O'Harte, et al., 2002, *Diabetologia*, 45:1281-1291), la mutación de la alanina en la posición 2 (Hinke, et al., 2002, *Diabetes*, 51:656-661), la mutación del ácido glutámico en la posición 3 (Gault, et al., 2003, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 308:207-213), y la mutación de la alanina en la posición 13 (Gault, et al., 2003, *Cell Biol. International*, 27:41-46), 50

El documento WO 2004/103390 A2 se refiere a composiciones de análogos peptídicos y polipeptídicos que son resistentes a la proteólisis.

55 El documento US 2008/182795 A1 se refiere a un antagonista específico del polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP), que consiste fundamentalmente en un polipéptido de 24 aminoácidos que se corresponden con las posiciones 7-30 de la secuencia de GIP según se describe en el documento, así como los usos del antagonista.

El documento US 2007/0167370 A1 se refiere a análogos peptídicos que son antagonistas del péptido inhibidor gástrico (GIP), y sus usos.

Las siguientes solicitudes de patente que se han presentado se refieren a los efectos de análogos de GIP sobre la función de diversos órganos diana y su uso potencial como agentes terapéuticos:

5 La publicación PCT WO 00/58360 describe análogos de peptidilo de GIP que estimulan la liberación de insulina. En particular, esta solicitud describe análogos de peptidilo específicos que comprenden al menos 15 restos aminoácidos desde el extremo N-terminal de GIP(1-42), por ejemplo, un análogo de GIP que contiene exactamente una sustitución o una modificación de un aminoácido en las posiciones 1, 2 y 3, tal como [Pro³]GIP(1-42).

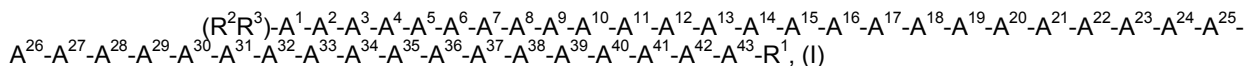
10 La publicación PCT WO 98/24464 describe un antagonista de GIP que consiste fundamentalmente en un polipéptido de 24 aminoácidos que se corresponden con las posiciones 7-30 de la secuencia de GIP, un método para tratar la diabetes mellitus no insulino dependiente, y un método para mejorar la tolerancia a la glucosa en un paciente con diabetes mellitus no insulino dependiente.

15 La publicación PCT WO 03/082898 describe fragmentos truncados C-terminales y análogos modificados en el N-terminal de GIP, así como diversos análogos de GIP con un enlace peptídico reducido o alteraciones en los aminoácidos cercanos al sitio de ruptura específico de DPPIV. Esta solicitud también describe análogos con diferentes conectores entre los sitios del unión al receptor potenciales de GIP. Se afirma que los compuestos de esta solicitud son útiles para tratar trastornos mediados por el receptor de GIP, tales como la diabetes mellitus no insulino dependiente y la obesidad.

20 Existe una necesidad de mejores análogos de GIP, que sean estables en una formulación y tengan una semivida plasmática larga *in vivo* que surge de una menor susceptibilidad a la proteólisis y una menor eliminación, al mismo tiempo que mantienen la afinidad de unión con un receptor de GIP para provocar los respectivos efectos agonistas o antagonistas. Además, entre otros efectos terapéuticos de los compuestos de la presente invención, tal como se ilustran en la presente, un control más estricto de los niveles de glucosa plasmática puede evitar complicaciones diabéticas a largo plazo, proporcionando con ello una mejor calidad de vida a los pacientes.

25 **Sumario de la invención**

En un aspecto, la invención se refiere a variantes peptídicos de GIP con la siguiente fórmula (I):



en la que:

30 A¹ está deletado;

A² es Ala, 4Hppa, o está deletado;

A³ es Glu, 4Hyp, Pro, o está deletado;

A⁴ es Gly, o está deletado;

A⁵ es Thr, o está deletado;

35 A⁶ is Phe, o está deletado;

A⁷ es A5c o A6c;

A⁸ es Ser o Chc-Ser;

A⁹ es Asp;

A¹⁰ es Tyr;

40 A¹¹ es Ser, A6c o Aib;

A¹² es Ile;

A¹³ es Ala o Aib;

A¹⁴ es Met, A6c o Nle;

A¹⁵ es Asp;

45 A¹⁶ es Lys;

- A¹⁷ es Ile;
- A¹⁸ es His;
- A¹⁹ es Gln;
- A²⁰ es Gln;
- 5 A²¹ es Asp;
- A²² es Phe;
- A²³ es Val;
- A²⁴ es Asn;
- A²⁵ es Trp;
- 10 A²⁶ es Leu;
- A²⁷ es Leu;
- A²⁸ es Ala;
- A²⁹ es Gln;
- A³⁰ es Lys;
- 15 A³¹ es Gly, Cys(Hsu), Cys(Psu), 2Nal, D-2Nal, Orn(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃), Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃), Orn(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃), o está delecionado;
- A³² es Lys, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³³ es Lys, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁴ es Asn, Cys(Psu), Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃), o está delecionado;
- 20 A³⁵ es Asp, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁶ es Trp, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁷ es Lys, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁸ es His, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁹ es Asn, Cys(Psu), o está delecionado;
- 25 A⁴⁰ es Ile, Cys(Psu), o está delecionado;
- A⁴¹ es Thr, o está delecionado;
- A⁴² es Gln, o está delecionado;
- A⁴³ es Gln, o está delecionado;
- R¹ es OH o NH₂;
- 30 cada uno de R² y R³ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, o acilo(C₁-C₃₀), con la condición de que cuando R² es acilo(C₁-C₃₀), entonces R³ es H;
- y
- con la condición de que cuando A² es 4Hppa, entonces R² y R³ están delecionados; y
- con la condición de que al menos uno de A², A³, A⁴, A⁵, A⁶, A⁸, A⁹, A¹¹, A¹³, A¹⁴, A³¹, A³², A³³, A³⁴, A³⁵, A³⁶, A³⁷, A³⁸, A³⁹ y A⁴⁰ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo;
- 35 o su sal farmacéuticamente aceptable.
- Un subconjunto de los compuestos del anterior subconjunto (A) son aquellos en los que:
- A² está delecionado;

- A³ está deletado;
- A⁴ está deletado;
- A⁵ está deletado;
- A⁶ está deletado;
- 5 A⁷ es A5c o A6c;
- A⁸ es Ser;
- A⁹ es Asp;
- A¹⁰ es Tyr;
- A¹¹ es Ser;
- 10 A¹² es Ile;
- A¹³ es Ala;
- A¹⁴ es Met;
- A³¹ es Gly, Cys(Hsu), Cys(Psu), 2Nal, D-2Nal, Orn(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃), Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃), u Orn(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃);
- 15 A³² es Lys o Cys(Psu);
- A³³ es Lys o Cys(Psu);
- A³⁴ es Asn, Cys(Psu), u Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃);
- A³⁵ es Asp o Cys(Psu);
- A³⁶ es Trp o Cys(Psu);
- 20 A³⁷ es Lys o Cys(Psu);
- A³⁸ es His o Cys(Psu);
- A³⁹ es Asn o Cys(Psu);
- A⁴⁰ es Ile o Cys(Psu);
- A⁴¹ es Thr;
- 25 A⁴² es Gln; y
- A⁴³ está deletado.

Un subconjunto de los compuestos del anterior subconjunto (A) son aquellos en los que A⁴³ está deletado, A² es 4Hppa, y al menos uno de A³, A¹¹, A¹³ y A¹⁴ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo.

- 30 Otro subconjunto de los compuestos del anterior subconjunto (A) son aquellos en los que de A² a A⁵ y de A³¹ a A⁴³ están deletados, y al menos uno de A⁶, A¹¹ y A¹⁴ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo.

Otro subconjunto de los compuestos del anterior subconjunto (A) son aquellos en los que de A² a A⁶ y A⁴³ están deletados, y al menos uno de A⁶ y A³¹ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo.

- 35 Otro subconjunto de los compuestos del anterior subconjunto (A) son aquellos en los que de A² a A⁵ y A⁴³ están deletados, y al menos uno de A⁶ y A³¹ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo.

Otro subconjunto de los compuestos del anterior subconjunto (A) son aquellos en los que de A² a A⁵ y de A³¹ a A⁴³ están deletados, y al menos uno de A⁶ y A³¹ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo.

Los compuestos preferidos de fórmula (I) son:

- 40 Ejemplo 1: (Ac-A6c⁷)hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:4);

- Ejemplo 2: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)⁴⁰]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:5);
- Ejemplo 3: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:6);
- Ejemplo 4: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁸]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:7);
- Ejemplo 5: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁶]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:8);
- 5 Ejemplo 6: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁵]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:9);
- Ejemplo 7: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁴]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:10);
- Ejemplo 8: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³³]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:11);
- Ejemplo 9: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³²]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:12);
- Ejemplo 10: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:13);
- 10 Ejemplo 11: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁷]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:14);
- Ejemplo 12: [Ac-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:15);
- Ejemplo 13: [Ac-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:16);
- Ejemplo 14: [A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:17);
- Ejemplo 15: [CH₃-(CH₂)₈-C(O)-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH
- 15 Ejemplo 16: [Ac-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:19);
- Ejemplo 17: [A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:20);
- Ejemplo 18: [CH₃-(CH₂)₄-C(O)-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:21);
- Ejemplo 19: [Ac-A6c⁷, Orn³⁴(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:22);
- Ejemplo 20: [A6c⁷, Orn³⁴(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:23);
- 20 Ejemplo 21: [CH₃-(CH₂)₈-C(O)-A6c⁷, Orn³⁴(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:24);
- Ejemplo 22: [Ac-A6c⁷, Cys(Hsu)³¹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:25);
- Ejemplo 23: [A6c⁷, Cys(Hsu)³¹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:26);
- Ejemplo 24: (Ac-A6c⁷, 2NaI³¹)hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:27);
- Ejemplo 25: (Ac-A6c⁷, D-2NaI³¹)hGIP(7-42)-OH;
- 25 Ejemplo 26: (Ac-4Hyp³, A6c⁷)hGIP(3-42)-OH (SEQ ID NO:28);
- Ejemplo 27: (Ac-A6c⁷, Gln⁴³)hGIP(7-43)-OH (SEQ ID NO:29);
- Ejemplo 28: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(7-34)-NH₂ (SEQ ID NO:30);
- Ejemplo 29: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(7-31)-NH₂ (SEQ ID NO:31);
- Ejemplo 30: [Ac-Phe⁶, A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-42)-OH (SEQ ID NO:32);
- 30 Ejemplo 31: [A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-42)-OH (SEQ ID NO:33);
- Ejemplo 32: (Ac-Phe⁶, A6c⁷)hGIP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:34);
- Ejemplo 33: [Ac-Phe⁶, A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-31)-NH₂ (SEQ ID NO:35);
- Ejemplo 34: [A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-31)-NH₂ (SEQ ID NO:36);
- Ejemplo 35: (A5c⁷, Nle¹⁴)hGIP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:37);
- 35 Ejemplo 36: (A6c⁷, Nle¹⁴)hGIP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:38); o
- Ejemplo 42: (4Hppa², 4Hyp³, A6c⁷)hGIP(2-42)-OH (SEQ ID NO:44);
- o su sal farmacéuticamente aceptable.

Otros compuestos de los ejemplos de referencia descritos en la presente son:

Ejemplo 37: (Aib¹¹, Nle¹⁴)hGIP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:39);

Ejemplo 38: [Ac-Asp⁹, Cys(Psu)³³]hGIP(9-42)-OH (SEQ ID NO:40);

Ejemplo 39: [Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(8-42)-OH (SEQ ID NO:41);

5 Ejemplo 40: [Chc-Ser⁸, Cys(Psu)³¹]hGIP(8-42)-OH (SEQ ID NO:42);

Ejemplo 41: [CH₃-(CH₂)₄-C(O)-Ser⁸, Cys(Psu)³¹]hGIP(8-42)-OH (SEQ ID NO:43);

Ejemplo 43: (4Hppa², Pro³, Nle¹⁴)hGIP(2-42)-OH (SEQ ID NO:45);

Ejemplo 44: (4Hppa², Aib¹³)hGIP(2-42)-OH (SEQ ID NO:46);

Ejemplo 45: (4Hppa², A6c¹⁴)hGIP(2-42)-OH (SEQ ID NO:47);

10 Ejemplo 46: (4Hppa², A6c¹¹)hGIP(2-42)-OH (SEQ ID NO:48); y

Ejemplo 47: [Aib², A5c¹¹, Nle¹⁴, Lys⁴³(N-C(O)-(CH₂)₁₀-CH₃)]hGIP(2-43)-OH (SEQ ID NO:49).

Según otro aspecto de la presente invención, un compuesto según la presente invención, según se ha resumido anteriormente en la presente y se reivindica en las reivindicaciones adjuntas, puede comprender también un resto PEG unido covalentemente, en el que dicho resto PEG está unido covalentemente al compuesto a través de un conector Cys(maleimida), para formar Cys(succinimida-N-PEG), en el que "succinimida-N-PEG" es lineal o ramificado, según se define a continuación. Dicho resto PEG tiene un peso molecular medio de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 80.000, y preferiblemente dicho resto PEG se selecciona del grupo que consiste en 5K PEG, 10K PEG, 20K PEG, 30K PEG, 40K PEG, 50K PEG, y 60K PEG, para formar Cys(succinimida-N-5K PEG), Cys(succinimida-N-10K PEG), Cys(succinimida-N-20K PEG), Cys(succinimida-N-30K PEG), Cys(succinimida-N-40K PEG), Cys(succinimida-N-50K PEG), Cys(succinimida-N-60K PEG), o su sal farmacéuticamente aceptable.

La PEGilación se produce en una cualquiera de las posiciones de los restos aminoácidos 31-40, y preferiblemente en una cualquiera de las posiciones de los restos aminoácidos 32 y 33, por lo cual Cys(succinimida-N-PEG) se coloca en cualquiera de dichas posiciones de restos aminoácidos.

Además, la anterior fórmula (I) puede expandirse para proporcionar sitios de PEGilación en las posiciones A⁴⁴-A⁴⁷. El C-terminal de dichos compuestos de la presente invención PEGilados puede estar amidado, por ejemplo, (Ac-A6c⁷)hGIP(7-42)-NH₂ (SEQ ID NO:50), o puede permanecer como el ácido libre, por ejemplo, (Ac-A6c⁷)hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:4).

La invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

También se proporciona un compuesto o una composición farmacéutica de la invención para su uso en el tratamiento de trastornos o enfermedades mediadas por la unión de GIP-receptor en un sujeto, en el que dicho tratamiento comprende administrar dicho compuesto o composición al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz, y en el que dicho trastorno o enfermedad se selecciona del grupo que consiste en diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, obesidad, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hígado graso, glucagonomas, trastornos secretores de las vías respiratorias, trastornos metabólicos, artritis, osteoporosis, enfermedad del sistema nervioso central, reestenosis, enfermedad neurodegenerativa, insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca congestiva, síndrome nefrótico, cirrosis, edema pulmonar e hipertensión.

También se proporciona un compuesto o una composición farmacéutica de la invención para su uso en el tratamiento de trastornos relacionados con la diabetes en un sujeto, en el que dicho tratamiento comprende administrar dicho compuesto o composición al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz, y en el que dicho trastorno relacionado con la diabetes se selecciona del grupo que consiste en hiperglucemia, hiperinsulinemia, tolerancia alterada a la glucosa, glucosa en ayunas alterada, dislipidemia, hipertrigliceridemia, y resistencia a la insulina.

Descripción detallada de la invención

La solicitud puede emplear las siguientes abreviaturas, cuya comprensión es general:

| | |
|------|---|
| Abu: | ácido α-aminobutírico |
| Acc: | ácido 1-amino-1-cicloalquil(C ₃ -C ₉)carboxílico |

ES 2 528 599 T3

| | |
|---------------|--|
| A3c: | ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico |
| A4c: | ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico |
| A5c: | ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico |
| A6c: | ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico |
| Act: | 4-amino-4-carboxitetrahidropirano |
| Ado: | ácido 12-aminododecanoico |
| Aib: | ácido α -aminoisobutírico |
| Aic: | ácido 2-aminoindan-2-carboxílico |
| Ala o A: | alanina |
| β -Ala: | beta-alanina |
| Amp: | 4-aminofenilalanina; |
| Apc: | 4-amino-4-carboxipiperidina: |
| Arg o R: | arginina |
| hArg: | homoarginina |
| Asn o N: | asparagina |
| Asp o D: | ácido aspártico |
| Aun: | ácido 11-aminoundecanoico |
| Ava: | ácido 5-aminovalérico |
| Cha: | β -ciclohexilalanina |
| Chc: | ácido ciclohexilcarboxílico |
| Cys o C: | cisteína |
| D-Ala: | D-alanina |
| Dhp: | 3,4-deshidroprolina |
| Dmt: | ácido 5,5-dimetiltiazolidina-4-carboxílico |
| Gaba: | ácido γ -aminobutírico |
| Gln o Q: | glutamina |
| Glu o E: | ácido glutámico |
| Gly o G: | glicina |
| His o H: | histidina |
| 4Hppa: | ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico |
| Hsu: | N-hexilsuccinimida |
| 3Hyp: | 3-hidroxiprolina |
| 4Hyp: | 4-hidroxiprolina |

ES 2 528 599 T3

| | |
|-----------------|---|
| hPro: | homoprolina |
| Ile o I: | isoleucina |
| 4Ktp: | 4-cetoprolina |
| Leu o L: | leucina |
| Lys o K: | lisina |
| Met o M: | metionina |
| Nle: | norleucina |
| NMe-Tyr: | N-metiltirosina |
| 1Nal o 1-Nal: | β -(1-naftil)alanina |
| 2Nal o 2-Nal: | β -(2-naftil)alanina |
| Nle: | norleucina |
| Nva: | norvalina |
| Orn: | ornitina |
| 2Pal o 2-Pal: | β -(2-piridinil)alanina |
| 3Pal o 3-Pal: | β -(3-piridinil)alanina |
| 4Pal o 4-Pal: | β -(4-piridinil)alanina |
| Pen: | penicilamina |
| Phe o F: | fenilalanina |
| (3,4,5F)Phe: | 3,4,5-trifluorofenilalanina |
| (2,3,4,5,6)Phe: | 2,3,4,5,6-pentafluorofenilalanina |
| Pro o P: | prolina |
| Psu: | N-propilsuccinimida |
| Ser o S: | serina |
| Taz: | β -(4-tiazolil)alanina |
| 3Thi: | β -(3-tienil)alanina |
| Thr o T: | treonina |
| Thz: | tioprolina |
| Tic: | ácido tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico |
| Tle: | <i>terc</i> -leucina |
| Trp o W: | triptófano |
| Tyr o Y: | tirosina |
| Val o V: | valina |

Ciertas otras abreviaturas que pueden utilizarse en la presente se definen a continuación:

| | |
|--------|--|
| Act: | acetonitrilo |
| Boc: | terc-butiloxicarbonilo |
| BSA: | albúmina de suero bovino |
| DCM: | diclorometano |
| DIPEA: | diisopropiletilamina |
| DMF: | dimetilformamida |
| DTT: | ditiotrietol |
| ESI: | ionización de electropulverización |
| Fmoc: | 9-fluorenilmetiloxicarbonilo |
| HBTU: | hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio |
| HOBt: | 1-hidroxibenzotriazol |
| HPLC : | cromatografía líquida de alta resolución |
| IBMX: | isobutilmetilxantina |
| LC-MS: | cromatografía líquida-espectrometría de masas |
| Mtt: | metiltritilo |
| NMP: | N-metilpirrolidona |

5K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 5.000.

5 10K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 10.000.

20K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 20.000.

10 30K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 30.000.

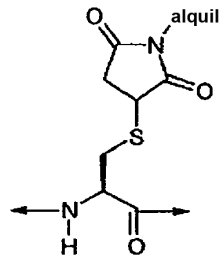
40K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 40.000.

50K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 50.000.

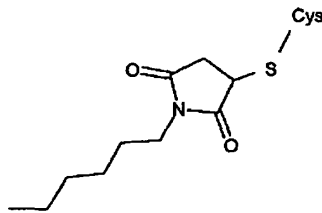
15 60K PEG: polietilenglicol, que puede incluir otros grupos funcionales o restos, tales como un conector, que es lineal o ramificado tal como se define a continuación, con un peso molecular total medio de aproximadamente 60.000.

| | |
|------|------------------------|
| tBu: | terc-butilo |
| TIS: | triisopropilsilano |
| Trt: | tritilo |
| TFA: | ácido trifluoroacético |
| Z: | benciloxicarbonilo |

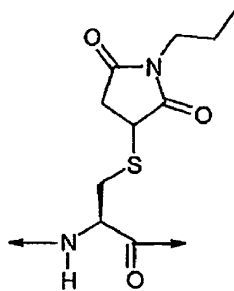
"Cys(succinimida-N-alquilo)" tiene la estructura:



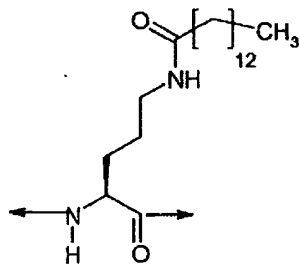
"Cys(Hsu)" tiene la estructura:



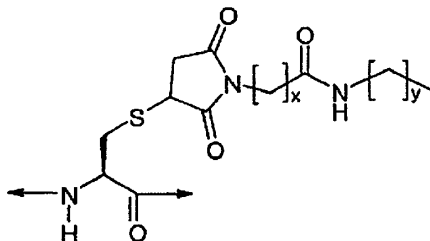
5 "Cys(Psu)" tiene la estructura:



"Orn(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃)" tiene la estructura:



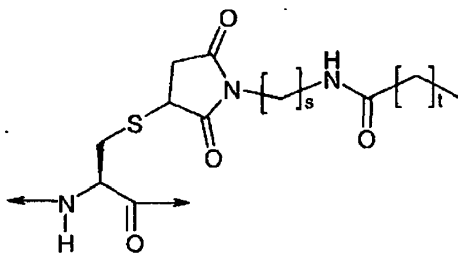
"Cys(succinimida-N-(CH₂)_x-C(O)-NH-(CH₂)_y-CH₃)" tiene la estructura:



10

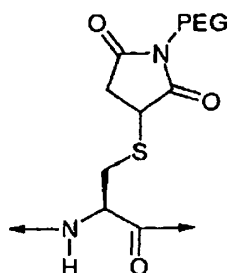
en la que $x = 1-30$, e $y = 1-30$.

"Cys(succinimida-N-(CH₂)_s-NH-C(O)-(CH₂)_t-CH₃)" tiene la estructura:



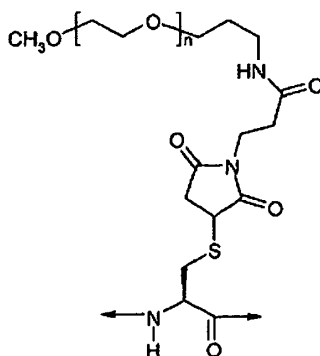
en la que s = 1-30, y t = 1-30.

"Cys(succinimida-N-PEG)" tiene la estructura:

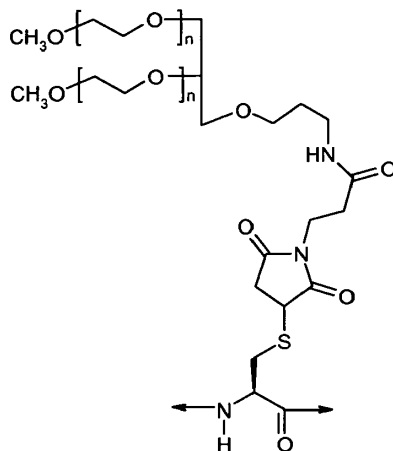


5

"Cys(succinimida-N-(CH₂)₂-C(O)NH-(CH₂)₃-PEG)" tiene la estructura:



"Cys(succinimida-N-(CH₂)₂-C(O)NH-(CH₂)₃-O-CH₂-CH(PEG)-CH₂-PEG)" tiene la estructura:



- 10 Con la excepción del aminoácido N-terminal, todas las abreviaturas (por ejemplo, Ala) de aminoácidos en esta descripción representan la estructura de -NH-C(R)(R')-CO-, en la que cada uno de R y R' es, independientemente, hidrógeno o la cadena lateral de un aminoácido (por ejemplo, R = CH₃ y R' = H para Ala), o R y R' pueden estar unidos para formar un sistema de anillos. Para el aminoácido N-terminal, la abreviatura representa la estructura (R²R³)N-C(R)(R')-CO-, en la que R² y R³ son como se definió en la anterior fórmula (I).

La expresión "resto hidrocarburo(C₁-C₃₀)" incluye alquilo, alqueno y alquino, y en el caso de alqueno y alquino, aparece C₂-C₃₀.

Un péptido descrito en la presente también puede denominarse en la presente con otro formato, por ejemplo, (A5c²)hGIP(1-42)-OH (SEQ ID NO:3), estando los aminoácidos sustituidos de la secuencia natural colocados entre paréntesis (por ejemplo, A5c² para Ala² en hGIP). Los números entre paréntesis se refieren al número de aminoácidos presentes en el péptido (por ejemplo, hGIP(1-42)-OH (SEQ ID NO:1) representa los aminoácidos 1 a 42 de la secuencia peptídica para hGIP). La denominación "NH₂" en hGIP(1-30)-NH₂ (SEQ ID NO:2) indica que el C-terminal del péptido está amidado; GIP(1-42) (SEQ ID NO:1) o GIP(1-42)-OH (SEQ ID NO:1) significa que el C-terminal es el ácido libre.

10 El GIP humano ("hGIP") tiene la secuencia de aminoácidos:

| |
|--|
| Tyr-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Ile-Ser-Asp-Tyr-Ser-Ile-Ala-Met-Asp-Lys-Ile-His-Gln-Gln-Asp-Phe-Val- |
| 1 5 10 15 20 |
| Asn-Trp-Leu-Leu-Ala-Gln-Lys-Gly-Lys-Lys-Asn-Asp-Trp-Lys-His-Asn-Ile-Thr-Gln. (SEQ ID NO:1) |
| 25 30 35 40 |

"Acilo" se refiere a R"-C(O)-, en el que R" es H, alkyl, alquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, arilo, alquilarilo, o alquilarilo sustituido.

15 "Alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado que contiene uno o más átomos de carbono, en el que los múltiples átomos de carbono, si están presentes, se unen mediante enlaces sencillos. El grupo hidrocarbonado alquilo puede tener cadena lineal o contener una o más ramificaciones o grupos cíclicos.

20 "Alquilo sustituido" se refiere a un alquilo en el que uno o más átomos de hidrógeno del grupo hidrocarbonado están reemplazados por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno (es decir, flúor, cloro, bromo y yodo), -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NHCH₃, -NO₂, -alquilo C₁₋₂₀ sustituido con halógenos, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃ y -(CH₂)₀₋₂₀-COOH. En diferentes realizaciones, están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes. La presencia de -(CH₂)₀₋₂₀-COOH da lugar a la producción de un ácido alquílico. Los ejemplos de ácidos alquílicos que contienen, o que consisten en -(CH₂)₀₋₂₀-COOH incluyen ácido 2-norbornanacético, ácido *terc*-butírico y ácido 3-ciclopentilpropiónico.

25 "Heteroalquilo" se refiere a un alquilo en el que uno o más de los átomos de carbono en el grupo hidrocarbonado están reemplazados por uno o más de los siguientes grupos: amino, amido, -O-, -S- o carbonilo. En diferentes realizaciones están presentes 1 o 2 heteroátomos.

"Heteroalquilo sustituido" se refiere a un heteroalquilo en el que uno o más de los átomos de hidrógeno del grupo hidrocarbonado están reemplazados por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NHCH₃, -NO₂, -alquilo C₁₋₂₀ sustituido con halógenos, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃, y -(CH₂)₀₋₂₀-COOH. En diferentes realizaciones están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

30 "Alqueno" se refiere a un grupo hidrocarbonado compuesto por dos o más carbonos en los que están presentes uno o más dobles enlaces carbono-carbono. El grupo hidrocarbonado alqueno puede tener cadena lineal o contener una o más ramificaciones o grupos cíclicos.

35 "Alqueno sustituido" se refiere a un alqueno en el que uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NHCH₃, -NO₂, -alquilo C₁₋₂₀ sustituido con halógenos, -CF₃, -OCH₃, -OCF₃, y -(CH₂)₀₋₂₀-COOH. En diferentes realizaciones están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

40 "Arilo" se refiere a un grupo aromático opcionalmente sustituido con al menos un anillo que tiene un sistema de pi-electrones conjugados, que contiene hasta tres sistemas de anillos conjugados o condensados. Arilo incluye grupos arilo carbocíclicos, arilo heterocíclicos y biarilos. Preferiblemente, el arilo es un anillo de cinco o seis miembros. Los átomos preferidos para un arilo heterocíclico son uno o más de azufre, oxígeno y/o nitrógeno. Los ejemplos de arilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, indol, quinolina, 2-imidazol y 9-antraceno. Los sustituyentes arilo se seleccionan del grupo que consiste en -alquilo C₁₋₂₀, -alcoxi C₁₋₂₀, halógeno, -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NO₂, -alquilo C₁₋₂₀ sustituido con halógenos, -CF₃, -OCF₃, y -(CH₂)₀₋₂₀-COOH. En diferentes realizaciones, el arilo contiene 0, 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

45 "Alquilarilo" se refiere a un "alquilo" unido a un "arilo".

Síntesis

Los péptidos de esta invención pueden prepararse mediante una síntesis de péptidos en fase sólida convencional. Véase, por ejemplo, Stewart, J. M., et al., 1984, Solid Phase Synthesis, Pierce Chemical Co., 2ª ed..

En la síntesis de un análogo de GIP de esta invención que contiene A5c, A6c y/o Aib, el tiempo de acoplamiento es de 2 hrs para estos restos y el resto que les sigue inmediatamente.

Los sustituyentes R² y R³ de la anterior fórmula genérica pueden unirse a la amina libre del aminoácido N-terminal A¹ mediante métodos convencionales conocidos en la técnica. Por ejemplo, pueden unirse grupos acilo, por ejemplo, -C(O)X³, acoplado el ácido libre, por ejemplo, -X³COOH, a la amina libre del aminoácido N-terminal mezclando la resina completada con 3 equivalentes molares del ácido libre y diisopropilcarbodiimida en cloruro de metileno durante aproximadamente una hora. Si el ácido libre contiene un grupo hidroxilo libre, por ejemplo, ácido 3-fluoro-4-hidroxifenilacético, entonces el acoplamiento debe realizarse con 3 equivalentes molares más de HOBT.

Los siguientes ejemplos describen métodos sintéticos para fabricar un péptido de esta invención, y estos métodos son muy conocidos por los expertos en la técnica. Otros métodos también son conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos se proporcionan como ilustración y no pretenden limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera.

Ejemplo 2: [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)⁴⁰]hGIP(7-42)-OH

Se empleó una síntesis de péptidos en fase sólida para ensamblar el péptido empleando la química de Fmoc asistida por microondas en un sintetizador de péptidos Liberty (CEM; Matthews, NC, EEUU) en la escala de 0,1 mmol. Se empleó la resina precargada Fmoc-Gln(Trt)-Wang (0,59 mmol/g; Novabiochem, San Diego, CA, EEUU) para generar el péptido ácido C-terminal. La resina (0,17 g) se colocó en un tubo cónico de 50 ml junto con 15 ml de dimetilformamida (DMF) y se cargó sobre una posición en la resina en el sintetizador. Después la resina se trasladó cuantitativamente al recipiente de reacción a través del proceso automático. Se empleó el protocolo de síntesis Liberty convencional para la escala de 0,1 mmol. Este protocolo implica la desprotección del resto Fmoc N-terminal a través de un tratamiento inicial con 7 ml de piperidina al 20%, que contenía N-hidroxibenzotriazol (HOBT) 0,1 M, en DMF. La etapa de desprotección inicial se desarrolló durante 30 segundos con potencia de microondas (45 vatios, temperatura máxima de 75 °C) y burbujeo de nitrógeno (3 segundos activado/7 segundos desactivado). El recipiente de reacción después se drenó y se realizó un segundo tratamiento con piperidina, idéntico al primer tratamiento, excepto que tuvo una duración de 3 minutos. La resina entonces se drenó y se lavó a fondo con DMF varias veces. Después se añadió el aminoácido protegido, Fmoc-Thr(tBu)-OH, preparado como una disolución madre 0,2 M en DMF (2,5 ml, 5 equivalentes), seguido de 1,0 ml de HBTU [hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio] 0,45 M (4,5 eq.) en DMF. A esto le siguió la adición de 0,5 ml de DIPEA (diisopropiletilamina) 2 M (10 eq.) en NMP (N-metilpirrolidinona). La etapa de acoplamiento se realizó durante 5 minutos empleando una potencia de microondas de 20 vatios, una temperatura máxima de 75 °C, y la misma velocidad de burbujeo de nitrógeno.

Después de la etapa de acoplamiento inicial, el recipiente de reacción se drenó y se rechazó el drenaje, y se repitió la etapa de acoplamiento. Entonces se inició el ciclo 2, similar al ciclo 1. Todos los aminoácidos se introdujeron de modo similar y se empleó una estrategia de acoplamiento doble a lo largo de toda la secuencia. Los ciclos 1-3, 19-20, 25-26, y 30-34 contienen un procedimiento de formación de casquete inmediatamente después de la etapa de acoplamiento. La formación del casquete se realizó añadiendo 7 ml de anhídrido acético 0,5 M, que contenía HOBT 0,015 M en NMP, junto con 2 ml de la disolución de DIPEA 2 M empleando un protocolo de microondas de múltiples etapas: 50 vatios de potencia durante 30 segundos (65 °C de temperatura máxima), seguido de 30 segundos de desactivación de la potencia de microondas, seguido de una segunda ronda de 30 segundos de activación de la potencia de microondas (50 vatios), y de nuevo 30 segundos sin potencia de microondas. La resina entonces se drenó y se lavó a fondo con DMF. Se emplearon los siguientes aminoácidos (Advanced Chemtech; Louisville, KY, EEUU): Ciclo 1: Fmoc-Thr(OtBu)-OH; Ciclo 2: Fmoc-Cys(Trt)-OH; Ciclo 3: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 4: Fmoc-His(Trt)-OH; Ciclo 5: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 6: Fmoc-Trp(Boc)-OH; Ciclo 7: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 8: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 9: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 10: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 11: Fmoc-Gly-OH; Ciclo 12: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 13: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 14: Fmoc-Ala-OH; Ciclo 15: Fmoc-Leu-OH; Ciclo 16: Fmoc-Leu-OH; Ciclo 17: Fmoc-Trp(Boc)-OH; Ciclo 18: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 19: Fmoc-Val-OH; Ciclo 20: Fmoc-Phe-OH; Ciclo 21: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 22: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 23: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 24: Fmoc-His(Trt)-OH; Ciclo 25: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 26: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 27: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 28: Fmoc-Met-OH; Ciclo 29: Fmoc-Ala-OH; Ciclo 30: Fmoc-De-OH; Ciclo 31: Fmoc-Tyr(tBu)-Ser(ψMe,Me,Pro)-OH; Ciclo 32: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 33: Fmoc-Ser(tBu)-OH; y Ciclo 34: Fmoc-A6c-OH. Tras haber completado el esqueleto del péptido, la resina se trató con una disolución de piperidina para eliminar el grupo Fmoc N-terminal, seguido de un tratamiento con el procedimiento de formación de casquete convencional para acetilar el N-terminal. Después la resina se lavó a fondo con DMF y se volvió a trasladar al tubo cónico de 50 ml empleando DMF como disolvente de transferencia.

La resina se desprotegió y se retiró de la resina mediante un tratamiento con 5 ml del siguiente reactivo: TIS al 5%, agua al 2%, ditionitriol (DTT) al 5% (en p/v), TFA al 88%, y se dejó mezclar durante 3,5 horas. El filtrado se recogió en 45 ml de éter etílico anhidro frío. El precipitado se sedimentó durante 10 minutos a 3500 RPM en una centrífuga refrigerada. El éter se decantó, y el péptido se resuspendió en éter fresco. El tratamiento con éter se realizó un total de 2 veces. Después del último lavado con éter, el péptido se dejó secar al aire para eliminar el éter residual. El sedimento del péptido se resuspendió en 8 ml de acetinitrilo (Acn), seguido de 8 ml de agua desionizada, y se dejó que se disolviese completamente. La disolución del péptido después se analizó mediante espectrometría de masas. El análisis de masas empleando ionización de electropulverización identificó un producto principal que contenía una

masa de 4358,0 Daltons, que se corresponde con el producto lineal acetilado. El producto bruto (aproximadamente 500 mg) se analizó mediante HPLC, empleando una columna de 250 x 4,6 mm C18 (Phenomenex, Torrance, CA, EEUU) empleando un gradiente de acetonitrilo al 2-80% (TFA al 0,1%) durante 30 minutos. La HPLC analítica identificó un producto con 38% de pureza. El péptido bruto entonces se purificó con una HPLC preparativa equipada con una columna en fase inversa C18 empleando acetonitrilo al 10-60% (TFA al 0,1%) a lo largo de 50 minutos a un caudal de 10 ml/min. El péptido purificado después se liofilizó, produciendo 15 mg del péptido. El péptido lineal después se derivatizó con N-propilmaleimida (Pma) para generar el derivado de propilsuccinimida (Psu) sobre la cadena lateral de cisteína. El péptido lineal purificado se introdujo en agua, ajustada hasta pH 6,5 con carbonato de amonio, a 5 mg/ml. Se añadieron 5 equivalentes de Pma con agitación constante durante 30 segundos. La disolución del péptido derivatizado después se analizó mediante espectrometría de masas. El análisis de masas identificó un producto principal que contiene una masa de 4498,6 Daltons, que se corresponde con el producto derivatizado con Psu deseado. El producto después se volvió a purificar mediante una HPLC preparativa empleando un gradiente similar al que se indicó anteriormente. El producto purificado se analizó mediante HPLC para la pureza (95,2%) y mediante espectrometría de masas (4498,6 Daltons) y después se liofilizó. Después de la liofilización se obtuvieron 4,3 mg del producto purificado, que representan un rendimiento del 1%.

Ejemplo 12: [Ac-A6c⁷, Orn(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃)³¹]hGIP(7-42)-OH

Se empleó una síntesis de péptidos en fase sólida para ensamblar el péptido empleando la química de Fmoc asistida por microondas en un sintetizador de péptidos Liberty (CEM; Matthews, NC, EEUU) en la escala de 0,1 mmol. Se empleó la resina precargada Fmoc-Gln(Trt)-Wang (0,59 mmol/g; Novabiochem, San Diego, CA, EEUU) para generar el péptido ácido C-terminal. La resina (0,17 g) se colocó en un tubo cónico de 50 ml junto con 15 ml de dimetilformamida (DMF) y se cargó sobre una posición en la resina en el sintetizador. Después la resina se trasladó cuantitativamente al recipiente de reacción a través del proceso automático. Se empleó el protocolo de síntesis Liberty convencional para la escala de 0,1 mmol. Este protocolo implica la desprotección del resto Fmoc N-terminal a través de un tratamiento inicial con 7 ml de piperidina al 20%, que contenía N-hidroxibenzotriazol (HOBT) 0,1 M, en DMF. La etapa de desprotección inicial se desarrolló durante 30 segundos con potencia de microondas (45 vatios, temperatura máxima de 75 °C) y burbujeo de nitrógeno (3 segundos activado/7 segundos desactivado). El recipiente de reacción después se drenó y se realizó un segundo tratamiento con piperidina, idéntico al primer tratamiento, excepto que tuvo una duración de 3 minutos. La resina entonces se drenó y se lavó a fondo con DMF varias veces. Después se añadió el aminoácido protegido, Fmoc-Thr(tBu)-OH, preparado como una disolución madre 0,2 M en DMF (2,5 ml, 5 equivalentes), seguido de 1,0 ml de HBTU [hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio] 0,45 M (4,5 eq.) en DMF. A esto le siguió la adición de 0,5 ml de DIPEA (diisopropiletilamina) 2 M (10 eq.) en NMP (N-metilpirrolidinona). La etapa de acoplamiento se realizó durante 5 minutos empleando una potencia de microondas de 20 vatios, una temperatura máxima de 75 °C, y la misma velocidad de burbujeo de nitrógeno.

Después de la etapa de acoplamiento inicial, el recipiente de reacción se drenó y se rechazó el drenaje, y se repitió la etapa de acoplamiento. Entonces se inició el ciclo 2, similar al ciclo 1. Todos los aminoácidos se introdujeron de modo similar y se empleó una estrategia de acoplamiento doble a lo largo de toda la secuencia. Los ciclos 1-3, 19-20, 25-26, y 30-34 contienen un procedimiento de formación de casquete inmediatamente después de la etapa de acoplamiento. La formación del casquete se realizó añadiendo 7 ml de anhídrido acético 0,5 M, que contenía HOBT 0,015 M en NMP, junto con 2 ml de la disolución de DIPEA 2 M empleando un protocolo de microondas de múltiples etapas: 50 vatios de potencia durante 30 segundos (65 °C de temperatura máxima), seguido de 30 segundos de desactivación de la potencia de microondas, seguido de una segunda ronda de 30 segundos de activación de la potencia de microondas (50 vatios), y de nuevo 30 segundos sin potencia de microondas. La resina entonces se drenó y se lavó a fondo con DMF. Se emplearon los siguientes aminoácidos (Advanced Chemtech; Louisville, KY, EEUU): Ciclo 1: Fmoc-Thr(tBu)-OH; Ciclo 2: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 3: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 4: Fmoc-His(Trt)-OH; Ciclo 5: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 6: Fmoc-Trp(Boc)-OH; Ciclo 7: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 8: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 9: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 10: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 11: Fmoc-Orn(Mtt)-OH; Ciclo 12: Fmoc-Lys(Boe)-OH; Ciclo 13: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 14: Fmoc-Ala-OH; Ciclo 15: Fmoc-Leu-OH; Ciclo 16: Fmoc-Leu-OH; Ciclo 17: Fmoc-Trp(Boc)-OH; Ciclo 18: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 19: Fmoc-Val-OH; Ciclo 20: Fmoc-Phe-OH; Ciclo 21: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 22: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 23: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 24: Fmoc-His(Trt)-OH; Ciclo 25: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 26: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 27: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 28: Fmoc-Met-OH; Ciclo 29: Fmoc-Ala-OH; Ciclo 30: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 31: Fmoc-Tyr(tBu)-Ser(ψMe,Me,Pro)-OH; Ciclo 32: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 33: Fmoc-Ser(tBu)-OH; y Ciclo 34: Fmoc-A6c-OH. El protocolo de acoplamiento para Fmoc-His(Trt)-OH es una versión ligeramente modificada del protocolo convencional. La potencia de microondas se desconectó durante los primeros 2 minutos, seguido de 4 minutos con la potencia de microondas activada (20 vatios, temperatura máxima de 50 °C). Tras haber completado el esqueleto del péptido, la resina se trató con una disolución de piperidina para eliminar el grupo Fmoc N-terminal, seguido de un tratamiento con el procedimiento de formación de casquete convencional para acetilar el N-terminal. La resina entonces se trató con 12 ml de ácido trifluoroacético (TFA) al 1%/triosopropilsilano (TIS) al 2% en diclorometano (DCM) durante 5 minutos y una velocidad de burbujeo de N₂ de 5 segundos activado y 10 segundos desactivado. Después la resina se drenó y de nuevo se trató con TFA al 1%/TIS al 5% en una disolución de DCM durante 5 minutos. Esto se realizó un total de 7 veces para eliminar con eficacia el resto Mtt de la cadena lateral de ornitina. La resina se lavó a fondo con DCM varias veces, y después se trató con el tratamiento de piperidina convencional para neutralizar la sal TFA residual sobre la δN de la ornitina. El ácido

mirístico (CH₃-(CH₂)₁₂-COOH; Aldrich, St. Louis, MO, EEUU), preparado como una disolución 0,2 M en DMF, se acopló a la cadena lateral de la ornitina empleando el protocolo de acoplamiento de aminoácidos convencional. Después la resina se lavó a fondo con DMF y se volvió a trasladar al tubo cónico de 50 ml empleando DMF como disolvente de transferencia.

5 La resina se desprotegió y se retiró de la resina mediante un tratamiento con 5 ml del siguiente reactivo: TIS al 5%, agua al 2%, ditioneitol (DTT) al 5% (en p/v), TFA al 88%, y se dejó mezclar durante 3,5 horas. El filtrado se recogió en 45 ml de éter etílico anhidro frío. El precipitado se sedimentó durante 10 minutos a 3500 RPM en una centrífuga refrigerada. El éter se decantó, y el péptido se resuspendió en éter fresco. El tratamiento con éter se realizó un total de 2 veces. Después del último lavado con éter, el péptido se dejó secar al aire para eliminar el éter residual. El
10 sedimentado del péptido se resuspendió en 8 ml de acetonitrilo (Acn), seguido de 8 ml de agua desionizada, y se dejó que se disolviese completamente. La disolución del péptido después se analizó mediante espectrometría de masas. El análisis de masas empleando ionización de electropulverización identificó un producto principal que contenía una masa de 4636,5 Daltons, que se corresponde con el producto deseado. El producto bruto se analizó mediante HPLC, empleando una columna de 250 x 4,6 mm C18 (Phenomenex, Torrance, CA, EEUU) empleando un gradiente de acetonitrilo al 2-80% (TFA al 0,1%) durante 30 minutos. La HPLC analítica identificó un producto con 37% de pureza. El péptido entonces se purificó con una HPLC preparativa equipada con una columna C18 empleando un gradiente de elución similar. El producto purificado se volvió a analizar mediante HPLC para la pureza (95,20%) y mediante espectrometría de masas (4636,6 Daltons) y después se liofilizó. Después de la liofilización se obtuvieron 3 mg del producto purificado, que representan un rendimiento del 0,6%.

20 **Ejemplo 22: [Ac-A6c⁷, Cys(Hsu)³¹]hGIP(7-42)-OH**

Se empleó una síntesis de péptidos en fase sólida para ensamblar el péptido empleando la química de Fmoc asistida por microondas en un sintetizador de péptidos Liberty (CEM; Matthews, NC, EEUU) en la escala de 0,1 mmol. Se empleó la resina precargada Fmoc-Gln(Trt)-Wang (0,59 mmol/g; Novabiochem, San Diego, CA, EEUU) para generar el péptido ácido C-terminal. La resina (0,17 g) se colocó en un tubo cónico de 50 ml junto con 15 ml de dimetilformamida (DMF) y se cargó sobre una posición en la resina en el sintetizador. Después la resina se trasladó
25 cuantitativamente al recipiente de reacción a través del proceso automático. Se empleó el protocolo de síntesis Liberty convencional para la escala de 0,1 mmol. Este protocolo implica la desprotección del resto Fmoc N-terminal a través de un tratamiento inicial con 7 ml de piperidina al 20%, que contenía N-hidroxibenzotriazol (HOBT) 0,1 M, en DMF. La etapa de desprotección inicial se desarrolló durante 30 segundos con potencia de microondas (45 vatios, temperatura máxima de 75 °C) y burbujeo de nitrógeno (3 segundos activado/7 segundos desactivado). El recipiente de reacción después se drenó y se realizó un segundo tratamiento con piperidina, idéntico al primer tratamiento, excepto que tuvo una duración de 3 minutos. La resina entonces se drenó y se lavó a fondo con DMF varias veces. Después se añadió el aminoácido protegido, Fmoc-Thr(tBu)-OH, preparado como una disolución madre 0,2 M en DMF (2,5 ml, 5 equivalentes), seguido de 1,0 ml de HBTU [hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio] 0,45 M (4,5 eq.) en DMF. A esto le siguió la adición de 0,5 ml de DIPEA (diisopropiletilamina) 2 M (10 eq.) en NMP (N-metilpirrolidinona). La etapa de acoplamiento se realizó durante 5 minutos empleando una potencia de microondas de 20 vatios, una temperatura máxima de 75 °C, y la misma velocidad de burbujeo de nitrógeno.

Después de la etapa de acoplamiento inicial, el recipiente de reacción se drenó y se rechazó el drenaje, y se repitió la etapa de acoplamiento. Entonces se inició el ciclo 2, similar al ciclo 1. Todos los aminoácidos se introdujeron de modo similar y se empleó una estrategia de acoplamiento doble a lo largo de toda la secuencia. Los ciclos 1-3, 19-20, 25-26, y 30-34 contienen un procedimiento de formación de casquete inmediatamente después de la etapa de acoplamiento. La formación del casquete se realizó añadiendo 7 ml de anhídrido acético 0,5 M, que contenía HOBT 0,015 M en NMP, junto con 2 ml de la disolución de DIPEA 2 M empleando un protocolo de microondas de múltiples etapas: 50 vatios de potencia durante 30 segundos (65 °C de temperatura máxima), seguido de 30 segundos de desactivación de la potencia de microondas, seguido de una segunda ronda de 30 segundos de activación de la potencia de microondas (50 vatios), y de nuevo 30 segundos sin potencia de microondas. La resina entonces se drenó y se lavó a fondo con DMF. Se emplearon los siguientes aminoácidos (Advanced Chemtech, Louisville, KY, EEUU): Ciclo 1: Fmoc-Thr(OtBu)-OH; Ciclo 2: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 3: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 4: Fmoc-His(Trt)-OH; Ciclo 5: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 6: Fmoc-Trp(Boc)-OH; Ciclo 7: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 8: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 9: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 10: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 11: Fmoc-Cys(Trt)-OH; Ciclo 12: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 13: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 14: Fmoc-Ala-OH; Ciclo 15: Fmoc-Leu-OH; Ciclo 16: Fmoc-Leu-OH; Ciclo 17: Fmoc-Trp(Boc)-OH; Ciclo 18: Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 19: Fmoc-Val-OH; Ciclo 20: Fmoc-Phe-OH; Ciclo 21: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 22: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 23: Fmoc-Gln(Trt)-OH; Ciclo 24: Fmoc-His(Trt)-OH; Ciclo 25: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 26: Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 27: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 28: Fmoc-Met-OH; Ciclo 29: Fmoc-Ala-OH; Ciclo 30: Fmoc-Ile-OH; Ciclo 31: Fmoc-Tyr(tBu)-Ser(psiMe,Me,Pro)-OH; Ciclo 32: Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 33: Fmoc-Ser(tBu)-OH; y Ciclo 34: Fmoc-A6c-OH. Tras haber completado el esqueleto del péptido, la resina se trató con una disolución de piperidina para eliminar el grupo Fmoc N-terminal, seguido de un tratamiento con el procedimiento de formación de casquete convencional para acetilar el N-terminal. Después la resina se lavó a fondo con DMF y se volvió a trasladar al tubo cónico de 50 ml empleando DMF como disolvente de transferencia.

La resina se desprotegió y se retiró de la resina mediante un tratamiento con 5 ml del siguiente reactivo: TIS al 5%, agua al 2%, ditioneitol (DTT) al 5% (en p/v), TFA al 88%, y se dejó mezclar durante 3,5 horas. El filtrado se recogió

5 en 45 ml de éter etílico anhidro frío. El precipitado se sedimentó durante 10 minutos a 3500 RPM en una centrífuga refrigerada. El éter se decantó, y el péptido se resuspendió en éter fresco. El tratamiento con éter se realizó un total de 2 veces. Después del último lavado con éter, el péptido se dejó secar al aire para eliminar el éter residual. El sedimento del péptido se resuspendió en 8 ml de acetonitrilo (Acn), seguido de 8 ml de agua desionizada, y se dejó que se disolviese completamente. La disolución del péptido después se analizó mediante espectrometría de masas. El análisis de masas empleando ionización de electropulverización identificó un producto principal que contenía una masa de 4414,9 Daltons, que se corresponde con el producto lineal. El producto bruto (aproximadamente 500 mg) se analizó mediante HPLC, empleando una columna de 250 x 4,6 mm C18 (Phenomenex, Torrance, CA, EEUU) empleando un gradiente de acetonitrilo al 2-80% (TFA al 0,1%) durante 30 minutos. La HPLC analítica identificó un producto con 58% de pureza. El péptido bruto después se derivatizó con N-hexilmaleimida (Hma) para generar el derivado de hexilsuccinimida (Hsu) sobre la cadena lateral de cisteína. El péptido lineal bruto se introdujo en agua, ajustada hasta pH 6,5 con carbonato de amonio, a 5 mg/ml. Se añadieron 5 equivalentes de Hma con agitación constante durante 30 segundos. El exceso de Hma se extinguió empleando 5 eq. de ditioneitol (DTT). La disolución del péptido derivatizado después se analizó mediante espectrometría de masas. El análisis de masas identificó un producto principal que contenía una masa de 4596,1 Daltons, que se corresponde con el producto derivatizado con Hsu deseado. El producto después se volvió a purificar mediante una HPLC preparativa empleando un gradiente similar al que se indicó anteriormente. El producto purificado se analizó mediante HPLC para la pureza (95,4%) y mediante espectrometría de masas (4596,4 Daltons) y después se liofilizó. Después de la liofilización se obtuvieron 28,1 mg del producto purificado, que representan un rendimiento del 6,1%.

20 Los compuestos GIP PEGilados descritos en la presente pueden sintetizarse sustancialmente según el procedimiento descrito para la síntesis del compuesto del ejemplo 2, empleando PEG-maleimida como material de partida en lugar de la N-propilmaleimida empleada en el ejemplo 2.

25 Los expertos en la técnica pueden preparar otros péptidos descritos en la presente empleando procedimientos sintéticos análogos a los descritos en los anteriores ejemplos. Los datos físicos para los compuestos ejemplificados en la presente se indican en la tabla 1.

Tabla 1

| Ejemplo n.º | Peso mol. (esperado) | Peso mol. (ESI-MS) | % de pureza (HPLC) |
|-------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| 1 | 4368,92 | 4368,8 | 96,70 |
| 2 | 4498,06 | 4498,6 | 95,20 |
| 3 | 4497,12 | 4497,5 | 99,90 |
| 4 | 4474,08 | 4473,9 | 99,90 |
| 5 | 4425,01 | 4425,0 | 99,90 |
| 6 | 4496,13 | 4496,5 | 99,90 |
| 7 | 4497,12 | 4496,7 | 99,90 |
| 8 | 4483,05 | 4482,4 | 99,90 |
| 9 | 4483,05 | 4482,7 | 99,90 |
| 10 | 4554,17 | 4554,0 | 99,90 |
| 11 | 4483,05 | 4482,7 | 98,40 |
| 12 | 4636,38 | 4636,6 | 95,20 |
| 13 | 4580,27 | 4580,7 | 96,70 |
| 14 | 4538,23 | 4538,8 | 99,90 |
| 15 | 4692,48 | 4693,1 | 95,00 |
| 16 | 4524,16 | 4524,9 | 96,20 |
| 17 | 4482,13 | 4482,6 | 99,90 |

ES 2 528 599 T3

| Ejemplo n.º | Peso mol. (esperado) | Peso mol. (ESI-MS) | % de pureza (HPLC) |
|----------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| 18 | 4580,27 | 4580,9 | 95,70 |
| 19 | 4523,22 | 4523,7 | 95,50 |
| 20 | 4481,18 | 4481,4 | 99,90 |
| 21 | 4635,43 | 4636,0 | 95,30 |
| 22 | 4596,25 | 4596,4 | 95,40 |
| 23 | 4554,21 | 4554,6 | 95,80 |
| 24 | 4509,11 | 4509,8 | 99,10 |
| 25 | 4509,11 | 4509,9 | 99,90 |
| 26 | 4787,37 | 4788,4 | 99,90 |
| 27 | 4497,05 | 4496,8 | 99,90 |
| 28 | 3530,07 | 3530,0 | 99,90 |
| 29 | 3159,62 | 3159,6 | 96,40 |
| 30 | 4701,35 | 4701,7 | 96,40 |
| 31 | 4659,31 | 4660,0 | 95,10 |
| 32 | 3064,50 | 3064,7 | 99,90 |
| 33 | 3306,80 | 3306,7 | 96,30 |
| 34 | 3264,76 | 3264,6 | 98,20 |
| 35 | 2990,40 | 2990,8 | 96,83 |
| 36 | 3004,42 | 3004,7 | 99,90 |
| 37 (ejemplo de referencia) | 2990,44 | 2990,8 | 97,20 |
| 38 (ejemplo de referencia) | 4270,80 | 4270,6 | 99,90 |
| 39 (ejemplo de referencia) | 4413,06 | 4413,5 | 99,90 |
| 40 (ejemplo de referencia) | 4497,12 | 4497,6 | 96,90 |
| 41 (ejemplo de referencia) | 4485,11 | 4485,7 | 96,40 |
| 42 | 4893,49 | 4894,4 | 99,90 |
| 43 (ejemplo de referencia) | 4847,45 | 4848,1 | 99,90 |
| 44 (ejemplo de referencia) | 4911,51 | 4911,4 | 99,90 |
| 45 (ejemplo de referencia) | 4891,45 | 4891,0 | 99,90 |
| 46 (ejemplo de referencia) | 4935,58 | 4935,8 | 99,90 |
| 47 (ejemplo de referencia) | 5150,9 | 5151,4 | 99,9 |

Ensayos funcionales**A. Ensayo de unión al receptor de hGIP *in vitro***

Las membranas para los ensayos de unión al receptor *in vitro* se prepararon homogeneizando células clonales CHO-K1 que expresan el receptor de GIP recombinante humano, con un Brinkman Polytron (ajuste 6, 15 seg), en Tris-HCl 50 mM enfriado en hielo, y después sometiénolas a dos centrifugaciones a 39.000 g durante 10 minutos, con una resuspensión en tampón fresco entre medias. Para el ensayo, se incubaron partes alícuotas de las preparaciones de membrana lavadas (100 minutos a 25 °C con [¹²⁵I]GIP 0,05 nM (aproximadamente 2200 Ci/mmol) en Tris-HCl 50 mM, bacitracina 0,1 mg/ml, y BSA al 0,1%. El volumen final del ensayo fue de 0,5 ml. Las incubaciones se terminaron mediante filtración rápida a través de filtros GF/C (empapados previamente en polietilimina al 0,5%) usando un colector de filtración Brandel. A continuación, cada tubo y cada filtro se lavaron tres veces con partes alícuotas de 5 ml del tampón enfriado en hielo. La unión específica se definió como el radioligando total unido menos el unido en presencia de GIP 1000 nM. Los datos de unión al receptor de hGIP para los compuestos ejemplificados en la presente se indican en la tabla 2.

B. Ensayo de semivida plasmática en seres humanos y ratas

Se añadió el péptido GIP (50 µl, 1 mg/ml) a 450 µl de plasma (humano o de rata), se agitó en vórtice brevemente y se incubó a 37 °C. Se retiraron 50 µl en diversos momentos, por ejemplo a las 0, 1, 2, 3, 4, 8, 24, 32, 48, 56, 72 horas, se mezclaron con 5 µl de ácido fórmico y 150 µl de acetonitrilo en un tubo de microcentrífuga, se agitaron en vórtice y se centrifugaron durante 10 minutos a 10K rpm. El sobrenadante se trasladó a un vial de inyección y se analizó mediante LC-MS. El sistema de LC-MS consistió en un espectrómetro de masas API4000 con una sonda ESI. Se empleó el modo de ion positivo y la detección de barrido completo. La separación por HPLC se realizó en una columna Luna 3µ C8 (2), 2 x 30 mm, con un gradiente desde A al 90% hasta B al 90% en 10 minutos a un caudal de 0,3 ml/min. El tampón A era ácido fórmico al 1% en agua, y el tampón B era ácido fórmico al 1% en acetonitrilo. Los datos de la semivida plasmática en seres humanos y ratas para los compuestos ejemplificados en la presente se indican en la tabla 2.

Tabla 2

| Ejemplo n.º | Ki(nM) | Plasma humano, T½ (hr) | Plasma de rata, T½ (hr) |
|-------------|--------|------------------------|-------------------------|
| 1 | N/A | >72 | 11,0 |
| 2 | 532,19 | 13,7 | 7,2 |
| 3 | 75,73 | 16,4 | 5,6 |
| 4 | 332,97 | 10,0 | 6,0 |
| 5 | 442,49 | 7,8 | 8,5 |
| 6 | 486,41 | 8,0 | 3,2 |
| 7 | 735,40 | 7,9 | 1,6 |
| 8 | 416,57 | N/A | N/A |
| 9 | 686,96 | N/A | N/A |
| 10 | 963,06 | 8,0 | 2,6 |
| 11 | 127,00 | N/A | N/A |
| 12 | 178,00 | 7,3 | >72 |
| 13 | N/A | 17,8 | 19,0 |
| 14 | N/A | 4,1 | 15,3 |
| 15 | N/A | 5,2 | >72 |
| 16 | N/A | >50 | 30,0 |
| 17 | N/A | >50 | 9,4 |

ES 2 528 599 T3

| Ejemplo n.º | Ki(nM) | Plasma humano, T½ (hr) | Plasma de rata, T½ (hr) |
|----------------------------|--------|------------------------|-------------------------|
| 18 | N/A | 13,8 | 6,3 |
| 19 | N/A | 18,9 | 10,7 |
| 20 | 274,00 | 9,4 | 13,9 |
| 21 | 163,50 | 8,0 | >72 |
| 22 | N/A | 7,7 | 5,0 |
| 23 | 772,00 | 11,7 | 5,3 |
| 24 | 194,33 | 26,3 | 12,2 |
| 25 | 159,39 | >50 | 13,7 |
| 26 | 546,10 | 30,1 | 17,5 |
| 27 | 7,92 | N/A | N/A |
| 28 | 114,78 | 8,8 | 4,1 |
| 29 | 48,32 | 12,2 | 7,0 |
| 30 | 574,00 | 7,2 | 7,6 |
| 31 | 277,01 | 4,4 | 5,1 |
| 32 | 68,54 | 24,1 | 60,3 |
| 33 | 77,48 | 13,6 | 10,2 |
| 34 | 101,42 | 11,3 | 7,4 |
| 35 | 734,33 | 16,5 | 23,0 |
| 36 | 212,33 | 21,9 | 21,6 |
| 37 (ejemplo de referencia) | 170,00 | 13,5 | 28,5 |
| 38 (ejemplo de referencia) | 472,00 | N/A | N/A |
| 39 (ejemplo de referencia) | N/A | 31,1 | 13,7 |
| 40 (ejemplo de referencia) | 403,33 | 4,1 | 6,9 |
| 41 (ejemplo de referencia) | 205,48 | 5,9 | 3,7 |
| 42 | 293,90 | >51 | 10,3 |
| 43 (ejemplo de referencia) | 800,01 | >53 | 2,3 |
| 44 (ejemplo de referencia) | 12,89 | 48,8 | 9,9 |
| 45 (ejemplo de referencia) | 50,43 | 64,2 | 4,3 |
| 46 (ejemplo de referencia) | 91,78 | 30,8 | 11,9 |
| 47 (ejemplo de referencia) | N/A | N/A | N/A |

C. Determinación de la estimulación de AMP cíclico

Se sembraron durante la noche 1 x 10⁵ células CHO-K1 que expresan el receptor de GIP recombinante humano o células de insulinoma RIN-5F, en placas de cultivo de células de 24 pocillos (Corning Incorporate, Corning, NY, EEUU). Para el ensayo, las células se preincubaron en 500 µl de disolución salina equilibrada de Hank (Sigma, St. Louis, MO, EEUU) con IBMX 0,55 mM (Sigma, St. Louis, MO, EEUU) ajustada a pH 7,3 durante 10 minutos. Entonces se añadieron GIP o sus análogos a una concentración de 100 nM. Después de una incubación durante 30 minutos a 37 °C, las placas se colocaron sobre hielo y se añadieron 500 µl de etanol absoluto enfriado en hielo para detener la reacción. Los contenidos de los pocillos se recogieron, y se centrifugaron a 2.700 g durante 20 minutos a 4 °C para eliminar los restos celulares. Se determinaron los niveles de AMPc en los sobrenadantes mediante un radioinmunoensayo (New England Nuclear, Boston, MA, EEUU).

Administración

Los péptidos de esta invención pueden proporcionarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de dichas sales incluyen, pero no se limitan a las formadas con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, láctico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, metansulfónico, toluensulfónico, o pamoico), ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, o ácido fosfórico), y ácidos poliméricos (por ejemplo, ácido tánico, carboximetilcelulosa, poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), o copolímeros de ácidos poli(láctico-glicólico)). Un método típico para fabricar una sal de un péptido de la presente invención es muy conocido en la técnica y puede realizarse mediante métodos convencionales de intercambio de sales. Por consiguiente, la sal TFA de un péptido de la presente invención (la sal TFA se obtiene de la purificación del péptido empleando una HPLC preparativa, eluyendo con disoluciones tampón que contienen TFA) puede convertirse en otra sal, tal como la sal acetato, disolviendo el péptido en una pequeña cantidad de disolución acuosa de ácido acético 0,25 N. La disolución resultante se aplica a una columna de HPLC semipreparativa (Zorbax, 300 SB, C-8). La columna se eluye con (1) una disolución acuosa de acetato de amonio 0,1 N durante 0,5 hrs, (2) una disolución acuosa de ácido acético 0,25 N durante 0,5 hrs, y (3) un gradiente lineal (disolución B del 20% al 100% a lo largo de 30 minutos) con un caudal de 4 ml/min (la disolución A es una disolución acuosa de ácido acético 0,25 N; la disolución B es ácido acético 0,25 N en acetonitrilo/agua, 80:20). Las fracciones que contienen el péptido se recogen y se liofilizan hasta la sequedad.

La dosificación del ingrediente activo en las composiciones de esta invención puede variar; sin embargo, es necesario que la cantidad del ingrediente activo sea tal que se obtenga una forma de dosificación adecuada. La dosificación seleccionada dependerá del efecto terapéutico deseado, de la vía de administración, y de la duración del tratamiento. En general, una dosificación eficaz para las actividades de esta invención estará en el intervalo de 1 x 10⁻⁷ a 200 mg/kg/día, preferiblemente de 1 x 10⁻⁴ a 100 mg/kg/día, que pueden administrarse como una única dosis o dividirse en múltiples dosis.

Los compuestos de esta invención pueden administrarse mediante vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, inyección intravenosa o subcutánea, o implante), nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica y pueden formularse con vehículos farmacéuticamente aceptables para proporcionar formas de dosificación apropiadas para cada vía de administración.

Las formas de dosificación sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólida, el compuesto activo se mezcla con al menos un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable, tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden comprender además, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de estos diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden comprender también agentes tamponantes. Los comprimidos y píldoras también pueden prepararse con recubrimientos entéricos.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen, sin limitación, emulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes, elixires y similares farmacéuticamente aceptables, que contengan los diluyentes inertes que se emplean habitualmente en la técnica, tales como agua. Además de dichos diluyentes inertes, las composiciones también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, y agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Las preparaciones según esta invención para la administración parenteral incluyen, sin limitación, disoluciones, suspensiones, emulsiones y similares estériles acuosas o no acuosas. Los ejemplos de disolventes o vehículos no acuosos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y aceite de maíz, gelatina, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Dichas formas de dosificación pueden contener además adyuvantes, tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes y dispersantes. Pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retiene bacterias, mediante la incorporación de agentes esterilizantes en las composiciones, mediante la irradiación de las composiciones, o mediante el calentamiento de las composiciones. También pueden fabricarse en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso.

Las composiciones para la administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden contener, además de la sustancia activa, excipientes tales como manteca de cacao o una cera de supositorio.

Las composiciones para la administración nasal o sublingual también se preparan con excipientes convencionales muy conocidos en la técnica.

- 5 Además, un compuesto de esta invención puede administrarse en una composición de liberación sostenida, tales como las descritas en las siguientes patentes y solicitudes de patente. La patente de EEUU n.º 5.672.659 describe composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y un poliéster. La patente de EEUU n.º 5.595.760 describe composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo en una forma gelificable. La patente de EEUU n.º 5.821.221 describe composiciones de liberación sostenida poliméricas que comprenden un agente bioactivo y quitosano. La patente de EEUU n.º 5.916.883 describe composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y ciclodextrina. La publicación PCT WO99/38536 describe composiciones de liberación sostenida absorbibles de un agente bioactivo. La publicación PCT WO00/04916 describe un proceso para fabricar micropartículas que comprenden un agente terapéutico, tal como un péptido en un proceso de aceite en agua.
- 10
- 15 A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que entienden habitualmente los expertos en la técnica a la que pertenece la invención.

Listado de secuencias

- <110> IPSEN PHARMA S.A.S.
 DONG, Zheng Xin
 5 SHEN, Yeelana
 DeOLIVEIRA, Daniel B.
- <120> Análogos truncados de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa
- 10 <130> 198P2/PCT2
- <150> 61/188.192 <151> 07-08-2008
- <150> 61/200.628 <151> 02-12-2008
- 15 <160> 50
- <170> PatentIn version 3.5
- 20 <210> 1
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
- 25 <400> 1
- Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys
 1 5 10 15
- Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys
 20 25 30
- Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
 35 40
- 30 <210> 2
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
- 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> AMIDACIÓN
- 40 <400> 2
- Tyr Ala Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys
 1 5 10 15
- Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys
 20 25 30
- 45 <210> 3
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 50 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclopentancarboxílico

<400> 3

Tyr Xaa Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys
 1 5 10 15

Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys
 20 25 30

Lys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
 35 40

5

<210> 4
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

20

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

25

<400> 4
 xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

30

<210> 5
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

40

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

45

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)..(34)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 5

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Cys Thr Gln
 35

- 5 <210> 6
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (1)..(1)
- 15 <223> ACETILACIÓN
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (1)..(1)
- 20 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (33)..(33)
- 25 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)
- <400> 6

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Cys Ile Thr Gln
 35

- 30 <210> 7
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 35 <220>
- <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (1)..(1)
- <223> ACETILACIÓN
- 40 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
- 45 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (32)..(32)
- 50

<223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 7

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys Cys
20 25 30

5 Asn Ile Thr Gln
35

<210> 8

<211> 36

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

15 <220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

20 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

25 <220>

<221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

30 <400> 8

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Cys Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35

35 <210> 9

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>

<221> MOD_RES

45 <222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

50 <222> (1)..(1)

<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

5 <400> 9

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Cys Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

10 <210> 10
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 20 <223> ACETILACIÓN

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 25 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 30 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 10

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Cys Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

35 <210> 11
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

50 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)

ES 2 528 599 T3

<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>

<221> MOD_RES

5 <222> (27)..(27)

<223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 11

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Cys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35

10

<210> 12

<211> 36

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

20

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

25

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

30

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

35

<400> 12

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Cys Lys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35

40

<210> 13

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

50 <223> ACETILACIÓN

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

10

<400> 13

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35

15

<210> 14
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

30

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)..(31)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 14

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Cys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35

40

<210> 15
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

50

<220>
 <221> MOD_RES

<222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

5 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa = ornitina (orn)

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃)

20 <400> 15
 Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15
 Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30
 Asn Ile Thr Gln
 35

25 <210> 16
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

40 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

45 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa = ornitina (orn)

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)
 <400> 16

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

- 5 <210> 17
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- 15 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
- 20 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (25)..(25)
- <223> Xaa = ornitina (orn)
- 25 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (25)..(25)
- <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)
- <400> 17

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

- 30 <210> 18
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 35 <220>
- <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- 40 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (1)..(1)
- <223> modified with CH₃-(CH₂)₈-C(O)
- 45 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
- 50 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (25)..(25)
- <223> Xaa = ornitina (orn)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 5 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)

 <400> 18

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30
 10
Asn Ile Thr Gln
35

 <210> 19
 <211> 36
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
 20
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 25
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
 30
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa = ornitina (orn)
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)
 40
 <400> 19

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35
 45 <210> 20
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 50 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

5 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa = ornitina (orn)

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)

15 <400> 20

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

20 <210> 21
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 30 <223> modificado con CH₃-(CH₂)₄-C(o)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 35 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (25)..(25)
 40 <223> Xaa = ornitina (orn)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 45 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)

<400> 21

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

50 <210> 22

<211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 20 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa = ornitina (orn)

<220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (28)..(28)
 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)

<400> 22

xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Xaa Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 30 35

<210> 23
 <211> 36
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

40 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

45 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (28)..(28)
 <223> Xaa = ornitina (orn)

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)

55 <400> 23

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Xaa Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

- 5 <210> 24
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (1)..(1)
- <223> modified with CH3-(CH2)8-C(O)
- 15 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (1)..(1)
- <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
- 20 <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- <222> (28)..(28)
- <223> Xaa = ornitina (orn)
- 25 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (28)..(28)
- <223> modificado con (N-C(O)-(CH2)8-CH3)
- 30 <400> 24

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Xaa Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln
 35

- 35 <210> 25
- <211> 36
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 40 <220>
- <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
- <220>
- <221> MOD_RES
- 45 <222> (1)..(1)
- <223> ACETILACIÓN
- <220>
- <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
- 50 <222> (1)..(1)
- <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 5 <223> modificado con N-hexilsuccinimida (Hsu)

 <400> 25

 xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

 Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

 Asn Ile Thr Gln
 35
 10
 <210> 26
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
 20
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con N-hexilsuccinimida (Hsu)
 30
 <400> 26

 xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

 Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

 Asn Ile Thr Gln
 35
 35
 <210> 27
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 50
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
 <220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (25)..(25)

<223> Xaa = beta-(2-naftil)alanina (2Nal)

5 <400> 27

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln
35

10 <210> 28

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

20 <223> ACETILACIÓN

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (1)..(1)

25 <223> Xaa = 4-hidroxiprolina (4Hyp)

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (5)..(5)

30 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<400> 28

Xaa Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His
1 5 10 15

Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn
20 25 30

Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln

35

<210> 29

<211> 37

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40

<220>

<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>

45 <221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETILACIÓN

<220>

50 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<400> 29

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
20 25 30

Asn Ile Thr Gln Gln
35

5

<210> 30
<211> 28
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

15

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETILACIÓN

20

<220>
<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

25

<220>
<221> MOD_RES
<222> (25)..(25)
<223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

30

<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)..(28)
<223> AMIDACIÓN

35

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn
20 25

40

<210> 31
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

45

<220>
<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

50

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETILACIÓN

<220>
<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 5 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 10 <223> AMIDACIÓN

<400> 31

Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
 20 25

15 <210> 32
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

30 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 32

Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
 1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys
 20 25 30

His Asn Ile Thr Gln
 35

45 <210> 33
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 5 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

 <400> 33

Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys
20 25 30

His Asn Ile Thr Gln
35
 10
 <210> 34
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
 20
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 25
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> AMIDACIÓN
 <400> 34
 35
Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys
20 25

 <210> 35
 <211> 26
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN
 50
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 5 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 10 <223> AMIDACIÓN

<400> 35
Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
20 25

15 <210> 36
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

25 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> AMIDACIÓN

40 <400> 36
Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys
20 25

45 <210> 37
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

55 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclopentancarboxílico (A5c)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (9)..(9)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 5 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

<220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> AMIDACIÓN

<400> 37
 15

Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Xaa Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
 1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys
 20 25

<210> 38
 <211> 25
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 25 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

30 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

35 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> AMIDACIÓN

45 <400> 38

Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Xaa Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
 1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys
 20 25

50 <210> 39
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
 5

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
 10

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)
 15

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)
 20

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

<400> 39

Phe Ile Ser Asp Tyr Xaa Ile Ala Xaa Asp Lys Ile His Gln Gln Asp
1 5 10 15

Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys
20 25

30 <210> 40
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 40

Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe Val Asn
1 5 10 15

Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Cys Asn Asp Trp Lys His Asn Ile
20 25 30

50 **Thr Gln**
 <210> 41
 <211> 35
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

- <220>
<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínotropico dependiente de glucosa (GIP)
- 5 <220>
<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
<222> (24)..(24)
<223> Xaa = ornitina (orn)
- 10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)
- 15 <400> 41
- Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe Val
1 5 10 15
- Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Xaa Lys Lys Asn Asp Trp Lys His Asn
20 25 30
- Ile Thr Gln
35
- 20 <210> 42
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 25 <220>
<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínotropico dependiente de glucosa (GIP)
- 30 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> modificado con ácido ciclohexilcarboxílico (Chc)
- 35 <220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)
- <400> 42
- Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe Val
1 5 10 15
- Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys His Asn
20 25 30
- Ile Thr Gln
35
- 40 <210> 43
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 45 <220>
<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínotropico dependiente de glucosa (GIP)
- 50 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)

<223> modificado con CH₃-(CH₂)₄-C(o)

<220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (24)..(24)
 <223> modificado con N-propilsuccinimida (Psu)

<400> 43

Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe Val
 1 5 10 15

Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Cys Lys Lys Asn Asp Trp Lys His Asn
 20 25 30

10 **Ile Thr Gln**
 35

<210> 44
 <211> 41
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

20 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (4Hppa)

25 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = 4-hidroxiprolina (4Hyp)

30 <220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

35 <400> 44

Xaa Xaa Gly Thr Phe Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile
 1 5 10 15

His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys
 20 25 30

Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
 35 40

40 <210> 45
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 45 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 50 <223> Xaa = ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (4Hppa)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

5

<400> 45

Xaa Pro Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Xaa Asp Lys Ile
 1 5 10 15

His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys
 20 25 30

Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
 35 40

10

<210> 46
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

20

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (4Hppa)

25

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

<400> 46

xaa Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile xaa Met Asp Lys Ile
 1 5 10 15

His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys
 20 25 30

30

Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
 35 40

<210> 47
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

40

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (4Hppa)

45

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

50

<400> 47

Xaa Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Xaa Asp Lys Ile
1 5 10 15

His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys
20 25 30

Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
35 40

<210> 48

<211> 41

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (1)..(1)

15 <223> Xaa = ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (4Hppa)

<220>

<221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (10)..(10)

20 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

<400> 48

Xaa Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Xaa Ile Ala Met Asp Lys Ile
1 5 10 15

His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys
20 25 30

Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln
35 40

25 <210> 49

<211> 42

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

<220>

35 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

<220>

40 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (10)..(10)

<223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclopentancarboxílico (A5c)

<220>

45 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS

<222> (13)..(13)

<223> Xaa = norleucina (Nle)

<220>

50 <221> MOD_RES

<222> (42)..(42)

<223> modificado con (N-C(O)-(CH₂)₁₀-CH₃)

<400> 49

Xaa Glu Gly Thr Phe Ile Ser Asp Tyr Xaa Ile Ala Xaa Asp Lys Ile
 1 5 10 15

His Gln Gln Asp Phe Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys
 20 25 30

Asn Asp Trp Lys His Asn Ile Thr Gln Lys
 35 40

5

<210> 50
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Análogo sintético de un polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP)

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETILACIÓN

20

<220>
 <221> CARACTERÍSTICAS MISCELÁNEAS
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexancarboxílico (A6c)

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (36)..(36)
 <223> AMIDACIÓN

30

<400> 50

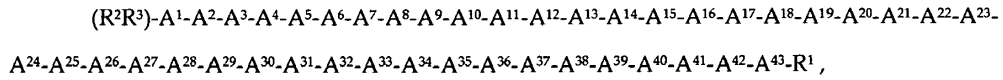
Xaa Ser Asp Tyr Ser Ile Ala Met Asp Lys Ile His Gln Gln Asp Phe
 1 5 10 15

Val Asn Trp Leu Leu Ala Gln Lys Gly Lys Lys Asn Asp Trp Lys His
 20 25 30

Asn Ile Thr Gln

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula (I),



(I)

en la que:

- 5 A¹ está delecionado;
 A² es Ala, 4Hppa, o está delecionado;
 A³ es Glu, 4Hyp, Pro, o está delecionado;
 A⁴ es Gly, o está delecionado;
 A⁵ es Thr, o está delecionado;
- 10 A⁶ is Phe, o está delecionado;
 A⁷ es A5c o A6c;
 A⁸ es Ser o Chc-Ser;
 A⁹ es Asp;
 A¹⁰ es Tyr;
- 15 A¹¹ es Ser, A6c o Aib;
 A¹² es Ile;
 A¹³ es Ala o Aib;
 A¹⁴ es Met, A6c, o Nle;
 A¹⁵ es Asp;
- 20 A¹⁶ es Lys;
 A¹⁷ es Ile;
 A¹⁸ es His;
 A¹⁹ es Gln;
 A²⁰ es Gln;
- 25 A²¹ es Asp;
 A²² es Phe;
 A²³ es Val;
 A²⁴ es Asn;
 A²¹ es Trp;
- 30 A²⁶ es Leu;
 A²⁷ es Leu;
 A²⁸ es Ala;
 A²⁹ es Gln;
 A³⁰ es Lys;

- A³¹ es Gly, Cys(Hsu), Cys(Psu), 2Nal, D-2Nal, Orn(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃), Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃), Orn(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃), o está delecionado;
- A³² es Lys, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³³ es Lys, Cys(Psu), o está delecionado;
- 5 A³⁴ es Asn, Cys(Psu), Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃), o está delecionado;
- A³⁵ es Asp, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁶ es Trp, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁷ es Lys, Cys(Psu), o está delecionado;
- A³⁸ es His, Cys(Psu), o está delecionado;
- 10 A³⁹ es Asn, Cys(Psu), o está delecionado;
- A⁴⁰ es Ile, Cys(Psu), o está delecionado;
- A⁴¹ es Thr, o está delecionado;
- A⁴² es Gln, o está delecionado;
- A⁴³ es Gln, o está delecionado;
- 15 R¹ es OH o NH₂;
- cada uno de R² y R³ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H o acilo(C₁-C₃₀); con la condición de que cuando R² es acilo(C₁-C₃₀), entonces R³ es H; y
- con la condición de que cuando A² es 4Hppa, entonces R² y R³ están delecionados; y
- 20 con la condición de que al menos uno de A², A³, A⁴, A⁵, A⁶, A⁸, A⁹, A¹¹, A¹³, A¹⁴, A³¹, A³², A³³, A³⁴, A³⁵, A³⁶, A³⁷, A³⁸, A³⁹ y A⁴⁰ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo;
- o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 2.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es:
- (Ac-A6c⁷, Gln⁴³)hGIP(7-43)-OH (SEQ ID NO:29);
- (Ac-A6c⁷)hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:4);
- 25 [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)⁴⁰]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:5);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:6);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁸]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:7);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁶]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:8);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁵]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:9);
- 30 [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁴]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:10);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³³]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:11);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³²]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:12);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:13);
- [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³⁷]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:14);
- 35 [Ac-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:15);
- [Ac-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:16);
- [A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:17);
- [CH₃-(CH₂)₈-C(O)-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:18);

- [Ac-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:19);
 [A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:20);
 [CH₃-(CH₂)₄-C(O)-A6c⁷, Orn³¹(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:21);
 [Ac-A6c⁷, Orn³⁴(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:22);
 5 [A6c⁷, Orn³⁴(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:23);
 [CH₃-(CH₂)₈-C(O)-A6c⁷, Orn³⁴(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃)]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:24);
 [Ac-A6c⁷, Cys(Hsu)³¹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:25);
 [A6c⁷, Cys(Hsu)³¹]hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:26);
 (Ac-A6c⁷, 2Nal³¹)hGIP(7-42)-OH (SEQ ID NO:27);
 10 (Ac-A6c⁷, D-2Nal³¹)hGIP(7-42)-OH;
 (Ac-4Hyp³, A6c⁷)hGIP(3-42)-OH (SEQ ID NO:28);
 [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(7-34)-NH₂ (SEQ ID NO:30);
 [Ac-A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(7-31)-NH₂ (SEQ ID NO:31);
 [Ac-Phe⁶, A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-42)-OH (SEQ ID NO:32);
 15 [A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-42)-OH (SEQ ID NO:33);
 (Ac-Phe⁶, A6c⁷)hGIP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:34);
 [Ac-Phe⁶, A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-31)-NH₂ (SEQ ID NO:35);
 [A6c⁷, Cys(Psu)³¹]hGIP(6-31)-NH₂ (SEQ ID NO:36);
 (A5c⁷, Nle¹⁴)hGEP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:37);
 20 (A6c⁷, Nle¹⁴)hGIP(6-30)-NH₂ (SEQ ID NO:38); o
 (4Hppa², 4Hyp³, A6c⁷)hGIP(2-42)-OH (SEQ ID NO:44);
 o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 3.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que:
- A² está deletado;
- 25 A³ está deletado;
- A⁴ está deletado;
- A⁵ está deletado;
- A⁶ está deletado;
- A⁷ es A5c o A6c;
- 30 A⁸ es Ser;
- A⁹ es Asp;
- A¹⁰ es Tyr;
- A¹¹ es Ser;
- A¹² es Ile;
- 35 A¹³ es Ala;
- A¹⁴ es Met;

- A³¹ es Gly, Cys(Hsu), Cys(Psu), 2Nal, D-2Nal, Orn(N-C(O)-(CH₂)₄-CH₃), Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃), u Orn(N-C(O)-(CH₂)₁₂-CH₃);
- A³² es Lys o Cys(Psu);
- A³³ es Lys o Cys(Psu);
- 5 A³⁴ es Asn, Cys(Psu), u Orn(N-C(O)-(CH₂)₈-CH₃);
- A³⁵ es Asp o Cys(Psu);
- A³⁶ es Trp o Cys(Psu);
- A³⁷ es Lys o Cys(Psu);
- A³⁸ es His o Cys(Psu);
- 10 A³⁹ es Asn o Cys(Psu);
- A⁴⁰ es Ile o Cys(Psu);
- A⁴¹ es Thr;
- A⁴² es Gln; y
- A⁴³ está delecionado;
- 15 o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 4.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que A⁴³ está delecionado; A² es 4Hppa; y al menos uno de A³, A¹¹, A¹³ y A¹⁴ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo; o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 20 5.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que de A² a A⁵ y de A³¹ a A⁴³ están delecionados; y al menos uno de A⁶, A¹¹ y A¹⁴ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo; o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 6.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que de A² a A⁶ y A⁴³ están delecionados; y al menos uno de A⁸ y A³¹ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo; o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 25 7.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que de A² a A⁵ y A⁴³ están delecionados; y al menos uno de A⁶ y A³¹ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo; o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 8.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que de A² a A⁵ y de A³² a A⁴³ están delecionados; y al menos uno de A⁶ y A³¹ no es el resto aminoácido de la correspondiente posición del GIP nativo; o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 30 9.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es: (Ac-A6c⁷, Gln⁴³)hGIP(7-43)-OH (SEQ ID NO:29); o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 10.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende también un resto PEG unido covalentemente, o su sal farmacéuticamente aceptable, en el que dicho resto PEG se selecciona del grupo que consiste en 5K PEG, 10K PEG, 20K PEG, 30K PEG, 40K PEG, 50K PEG, y 60K PEG, para formar Cys(succinimida-N-5K PEG), Cys(succinimida-N-10K PEG), Cys(succinimida-N-20K PEG), Cys(succinimida-N-30K PEG),
- 35 Cys(succinimida-N-40K PEG), Cys(succinimida-N-50K PEG), Cys(succinimida-N-60K PEG), o su sal farmacéuticamente aceptable.
- 11.- Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
- 40 12.- Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una composición farmacéutica de la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento de trastornos o enfermedades mediadas por la unión de GIP-receptor en un sujeto, en el que dicho tratamiento comprende administrar dicho compuesto o composición al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz, y en el que dicho trastorno o enfermedad se selecciona del grupo que consiste en diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, obesidad, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hígado graso, glucagonomas, trastornos secretores de las vías respiratorias, trastornos metabólicos, artritis,
- 45 osteoporosis, enfermedad del sistema nervioso central, reestenosis, enfermedad neurodegenerativa, insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca congestiva, síndrome nefrótico, cirrosis, edema pulmonar e hipertensión.

13.- Un compuesto o una composición para su uso según la reivindicación 12, en el que dicho trastorno o enfermedad es la diabetes de tipo 2.

5 14.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una composición farmacéutica de la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento de trastornos relacionados con la diabetes en un sujeto, en el que dicho tratamiento comprende administrar dicho compuesto o composición al sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz, y en el que dicho trastorno relacionado con la diabetes se selecciona del grupo que consiste en hiperglucemia, hiperinsulinemia, tolerancia alterada a la glucosa, glucosa en ayunas alterada, dislipidemia, hipertrigliceridemia, y resistencia a la insulina.