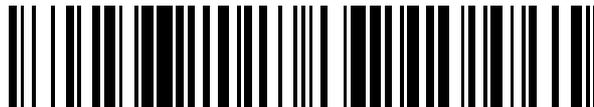


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 633**

51 Int. Cl.:

A61K 38/22 (2006.01)

C07K 14/575 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.01.2006** **E 12157967 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015** **EP 2505207**

54 Título: **Exendinas modificadas y usos de las mismas**

30 Prioridad:

14.01.2005 CN 200510038102

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.07.2015

73 Titular/es:

**WUXI GRANDCHAMP PHARMACEUTICAL
TECHNOLOGY CO., LTD. (100.0%)
Economical and Technology Development Zone
Liyuan, Binhu District
Wuxi, Jiangsu 214072, CN**

72 Inventor/es:

**LV, AIFENG;
SUN, CHANGAN y
WANG, YALI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

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

ES 2 541 633 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

Exendinas modificadas y usos de las mismas

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a exendinas de larga duración y a las sales farmacéuticas aceptables de las mismas. Más concretamente, la presente invención se refiere a exendinas pegiladas y a sales farmacéuticas aceptables de las mismas, y al método de preparación de las mismas, así como a sus usos en la prevención y el tratamiento de la diabetes de tipo 2 mediante la regulación del nivel de glucosa en sangre debido a la estimulación de la secreción de insulina por parte de las células β inducida por el receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) que actúa con dichos compuestos.

15 Antecedentes de la técnica

Recientemente, junto con el aumento del nivel de vida, la modernización del estilo de vida y el envejecimiento de la sociedad, la incidencia de la diabetes también sigue aumentando anualmente en todo el mundo, siendo la situación especialmente evidente en los países en desarrollo. La diabetes se ha convertido en la tercera enfermedad crónica no transmisible más importante junto a los tumores malignos y las enfermedades cardio-cerebrovasculares, constituyendo las principales causas de mortalidad y discapacidad. Según un informe de la OMS de 1997, en ese momento, había 135 millones de personas que padecían diabetes, y se esperaba que se alcanzaran los 175 millones en el 2000. En China, un informe reciente muestra que la incidencia de la diabetes en la población de edad superior a 20 años es del 3,21 %. Una estimación preliminar indica que, hoy en día, hay al menos 20 millones de pacientes diabéticos en China, siendo más del 95 % de ellos pacientes diabéticos de tipo 2. De 1987 a 1992, el gasto anual de usos directos o indirectos en la diabetes en Estados Unidos aumentó de 1.000 millones a 92 mil millones de dólares. En China, el gasto en el tratamiento de la diabetes también está aumentando a una velocidad increíble. De acuerdo con un análisis estadístico relacionado presentado en 1993, se gastaron hasta 2,2 mil millones de dólares en el tratamiento de la diabetes en ese momento, excluyendo el coste del tratamiento de las complicaciones de la diabetes, el gasto en los tratamientos y la atención sanitaria fuera de los hospitales, y la pérdida indirecta en la economía social.

La diabetes de tipo 2 se puede controlar moderando la dieta, con ejercicio y regulando el nivel de glucosa en sangre con medicación. La medicación empleada comúnmente incluye insulina, sulfonilurea, biguanida, así como compuestos de glitazona. Estos compuestos solo ayudan a potenciar que el nivel de glucosa en sangre vuelva de nuevo al nivel normal, pero no pueden recuperar las insuficiencias, especialmente las provocadas en los riñones, el sistema cardiovascular, o el sistema óptico o nervioso causadas por las complicaciones de la diabetes. Dichas complicaciones están estrechamente relacionadas con el aumento de la mortalidad causada por la diabetes. Los principales efectos secundarios inherentes a la primera generación de medicamentos para la diabetes incluyen la reducción del nivel de glucosa en sangre, el aumento del peso corporal y la hidropesía. Los mecanismos de estos medicamentos que actúan pueden ser diferentes. Sin embargo, ninguno de ellos es capaz de proteger las células β secretoras de insulina, por lo que no es posible mantener el metabolismo de la glucosa en sangre *in vivo* y la regulación de la increción en condiciones normales. En la mayoría de los casos, el uso consecutivo de un solo medicamento hace que ya no sea eficaz, lo que da lugar a la aplicación del tratamiento farmacológico combinado. Dado que los pacientes con diabetes toman simultáneamente fármacos reductores de la presión sanguínea y fármacos reductores del colesterol durante el tratamiento, el efecto a largo plazo de este tratamiento no es estable. Por lo tanto, el desarrollo de nuevos medicamentos para cooperar con los medicamentos actuales para la regulación del nivel de glucosa en sangre, y para lograr los objetos de protección y recuperación de la funcionalidad de las células β , así como el ajuste de la increción en respuesta a la ingesta de alimentos se traduciría en una gran mejora en el tratamiento de la diabetes.

La investigación del agonista del receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) es un tema probable. La investigación y el desarrollo en este campo pueden abrir un nuevo capítulo en el tratamiento de la diabetes de tipo 2. El péptido similar al glucagón de tipo 1 fue descubierto por primera vez en 1984, y es una clase de hormonas de secreción intestinal. Si se inyecta esta hormona a los diabéticos de tipo 2, se puede ajustar su nivel de glucosa en sangre a un nivel normal (Nathan, D. M., *et al.*, "Diabetes Care" 1992; 15:270-6; Zander, M., *et al.*, Lancet 2002; 359: 824-30). Se informó que la acción del péptido similar al glucagón y del agonista del receptor del mismo está causada principalmente por la secreción de insulina inducida por la activación del receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 sobre la superficie de las células β pancreáticas. Dado que dicho efecto depende del nivel de glucosa en sangre *in vivo*, el choque hipoglucémico mortal causado por el nivel sumamente bajo de glucosa en sangre, incluso en presencia del péptido similar al glucagón y del agonista del receptor del mismo, podría no tener lugar como ocurre en la medicina tradicional. Más concretamente, cuando el nivel de glucosa en sangre *in vivo* es superior a 6 mmol/l, el GLP-1 estimula notablemente la secreción de insulina, mientras que cuando el nivel de glucosa en sangre *in vivo* alcanza el nivel normal, se interrumpe la estimulación. Además, este tipo de agonista estimula la proliferación de las células β pancreáticas en el roedor (rata), y también mejora la acción tisular de las células β . La función que permite la recuperación de las células β pancreáticas abre perspectivas para el tratamiento de la

diabetes de tipo 2, al menos, mediante el retraso de la aparición de la diabetes de tipo 1 a partir de la diabetes de tipo 2. Mientras tanto, el péptido similar al glucagón y el agonista del receptor del mismo son capaces de inhibir la secreción del glucagón, haciendo posible de ese modo la reducción de la producción de glucosa en sangre por parte del hígado. Más importante aún, este tipo de agonista reduce la ingesta alimentaria mediante la inhibición de la peristalsis gastrointestinal y el vaciado gástrico, lo que reduce el peso corporal y también ayuda en el control del peso corporal de los diabéticos de tipo 2.

Divulgación de la invención

El objetivo de la presente invención es proporcionar exendinas pegiladas de larga duración y sales farmacéuticas aceptables de las mismas. Pueden inducir la secreción de insulina y reducir el nivel de glucosa en sangre mediante la activación del receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento y la prevención de la diabetes de tipo 2. Este tipo de compuestos tiene un largo tiempo de retención *in vivo* y muestran una acción prolongada durante el mismo. La retención prolongada no solo se debe al retraso de la excreción renal causada por la pegilación, sino que también se debe a la mejora de la estabilidad enzimática y química *in vivo* de la estructura principal del péptido producida por la pegilación. La pegilación garantiza el efecto duradero de estos compuestos y, por lo tanto, reduce los tiempos de inyección a los pacientes, y los pacientes pueden obtener los beneficios de la mejora de la calidad y la eficacia de dicha terapia.

Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar el uso de las exendinas de larga duración y/o sales farmacéuticas aceptables de las mismas como un agonista del receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) en el tratamiento y la prevención de la diabetes de tipo 2. Las siguientes soluciones técnicas alcanzan los objetivos de la presente invención. La presente invención se refiere a una exendina modificada, en la que la secuencia de aminoácidos de la exendina modificada se selecciona entre:

SEC ID N° 95: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPC-NH₂,
 SEC ID N° 88: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPC,
 SEC ID N° 89: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPCC y
 SEC ID N° 96 HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPCC-NH₂.

La presente invención proporciona además el uso de las exendinas o de exendinas pegiladas de acuerdo con la invención y sales farmacéuticas aceptables de las mismas en el tratamiento y/o la prevención de la diabetes de tipo 2.

Ensayos clínicos muestran que al someter a diabéticos de tipo 2 con nivel de glucosa en sangre mal controlado al tratamiento con péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1), su nivel de glucosa en sangre en ayunas se normaliza (Gutniak, *et al.*, *New Eng. J. Med.* 326: 1316-1322, 1992). La administración a largo plazo de péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) puede restablecer las funciones de las células β al nivel normal (Rachman, *et al.*, "Diabetes" 45:1524-1530, 1996). El péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) puede restablecer la función de respuesta a la glucosa de las células β en aquellos pacientes que tienen un defecto funcional de tolerancia a la glucosa (Byrne, *et al.*, "Diabetes" 47: 1259-1265, 1998). Dado que el péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) es fácilmente inactivado por la dipeptidil peptidasa (DPP IV) *in vivo* y que hay muchos puntos de escisión para otra endopeptidasa (NEP24.11) presentes en el péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1), la duración *in vivo* del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) es corta. Los prometedores efectos terapéuticos del péptido similar al glucagón de tipo 1 solo se pueden lograr mediante una administración continua. En este sentido, los investigadores se centran en el desarrollo de un agonista del receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) más estable, formado principalmente como el péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1) modificado. Los que es más importante, a finales de 1980 y principios de 1990, Eng *et al.* aislaron la exendina-4 de los órganos de secreción de saliva del monstruo de Gila (*Heloderma sespectrum*) en América del sudoeste (*Eng. J. et al.*, *J. Biol. Chem.*, 265: 20259-62, 1990, *Eng. J.*, *et al. J. Biol. Chem.*, 267:7402-05, 1992). La exendina-4 es un polipéptido que tiene 39 aminoácidos, que muestra un 53 % de homología con el péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1). La exendina-4 muestra afinidad hacia el receptor del GLP-1, y posee mayor capacidad que el GLP-1. Su capacidad en el ajuste del metabolismo de la glucosa es mejor que la del GLP-1; su concentración mínima para la estimulación de la secreción de la insulina es inferior a la del GLP-1; y lo que es más importante, la semivida *in vivo* de la exendina-4 es más larga que la del GLP-1 (Kudsen, L. B. *J. Med. Chem.* 47: 4128-4134, 2004). Esto se debe principalmente a la estabilidad enzimática única de la exendina-4, que se origina a partir de la eliminación de los sitios de escisión de endopeptidasa (tal como NEP24.11).

Los compuestos que poseen la función del agonista del receptor del péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1), tal como GLP-1 (7-36), GLP-1 (7-37), exendina-4 y otros derivados de GLP-1 y exendina-4, han sido ampliamente publicados en muchas publicaciones, incluyendo los documentos WO98/43658, WO00/15224, WO00/66629, WO/089280, WO01/9833 WO01/04156, la patente de EE.UU. N° 5.545.618, la patente de EE.UU. N° 5.118.; documento WO03/058203, la solicitud de patente de EE.UU. N° 60/395,738, el documento WO04/022004, "Exenatide" (Drugs R&D, 2004, 5(1) 35-40) y sus referencias citadas en los mismos.

En la siguiente tabla, se proporcionan agonistas del receptor de GLP-1 que existen en la naturaleza:

Péptido	Secuencia	SEC ID N°
GLP-1 (7-36)	HAEGTFTSDV SSYLEGQAAK EFWLWKGR-NH ₂	1
GLP-1 (7-37)	HAEGTFTSDV SSYLEGQAAK EFWLWVKGGRG	2
Exendina-4	HGEGTFTSDL SKQNIIEEEAVR LFIEWLKNNGG PSSGAPPPS-NH ₂	3

Las abreviaturas de las secuencias anteriores: H (His) histidina, A (Ala) alanina, E (Glu) ácido glutámico, G (Gly) glicina, T (Thr) treonina, F (Phe) fenilalanina, S (Ser) serina, D (Asp) ácido aspártico, V (Val) valina, Y (Tyr) tirosina, L (Leu) leucina, Q (Gln) glutamina, K (Lys) lisina, I (Ile) isoleucina, R (Arg) arginina, M (Met) metionina, N (Asn) asparagina, P (Pro) prolina.

5

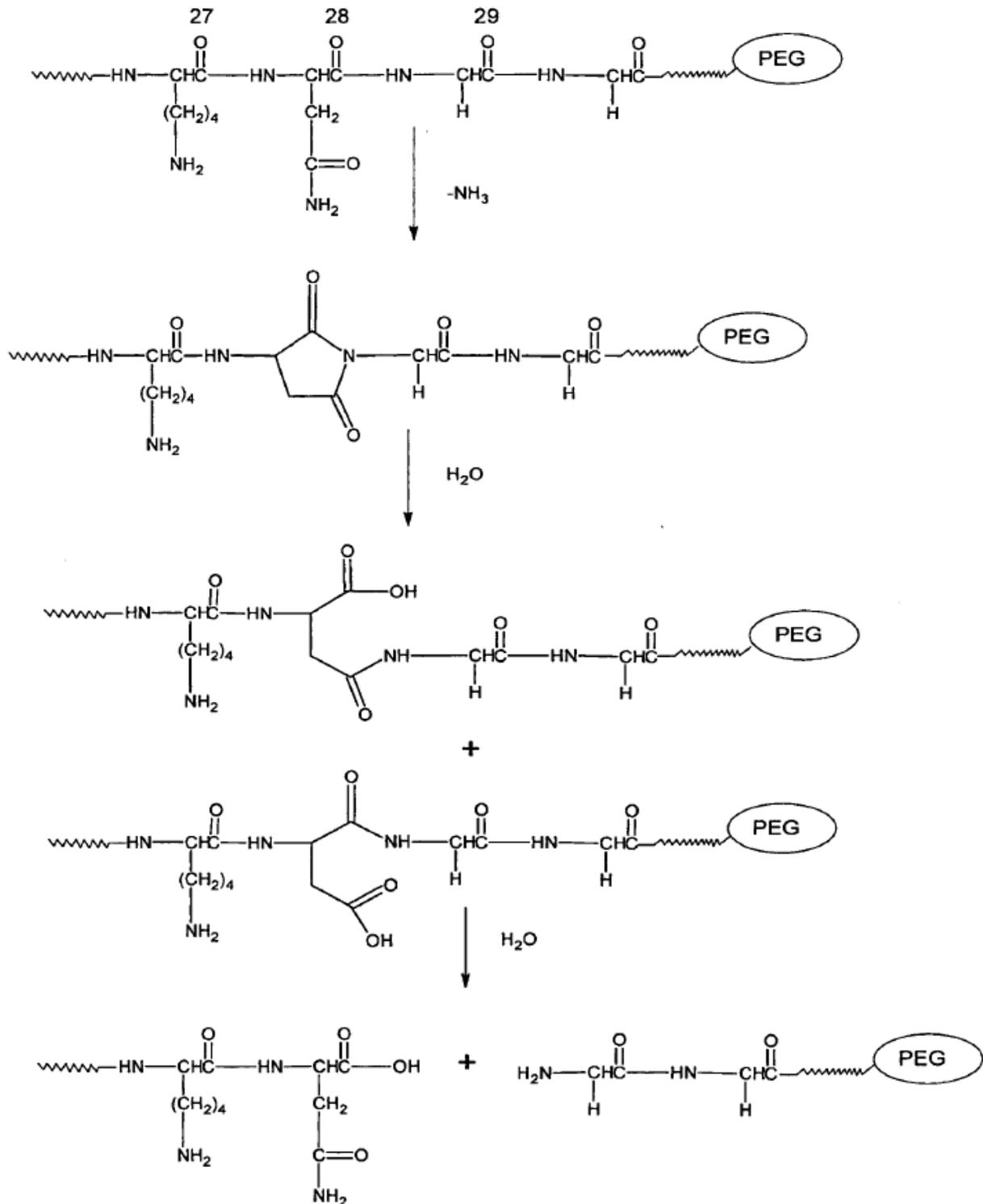
Aunque, en muchos laboratorios, se han desarrollado agonistas del receptor de GLP-1 más estables, su tiempo de duración *in vivo* sigue siendo corto, y por lo tanto, el desarrollo de derivados de exendinas de larga duración que actúen como agonistas del receptor de GLP-1 tiene una gran demanda. Dado que la ventana para el efecto terapéutico y los efectos secundarios (vómitos y náuseas) es relativamente estrecha, el uso de la formulación de liberación sostenida solo proporciona una pequeña oportunidad de éxito. La única manera posible de obtener un agonista del receptor de GLP-1 de larga duración es preparar un compuesto estable que tenga un tiempo de retención *in vivo* suficientemente prolongado.

10

15

La incorporación de polietilenglicol a la proteína activa o al polipéptido activo aumenta el tiempo de retención de la proteína activa y del polipéptido activo (Milton Harris *et al.*, *Nature reviews Drug Discovery*, Vol. 2, N° 3, 214-221). Dicha tecnología se ha aplicado con éxito en muchos fármacos biológicos a base de proteínas, tales como PEG-Intron, PEGASYS, Neulasta y Somavert y similares. Los métodos y la química para la incorporación de polietilenglicol a la estructura principal de proteínas y péptidos se proporcionan en las referencias pertinentes tales como la revisión de Veronese (Veronese, F. M., "Biomaterial" 2001 22:405-417). En vista del hecho de que tanto el GLP-1 como la exendina-4 pertenecen al grupo de los receptores de GLP-1, la patente de EE.UU. USP05424286 y PCT WO98/05351 desvelan los experimentos comparativos del GLP-1 y de la exendina-4 en términos de su función de secreción insulínica *in vivo*. Los experimentos mostraron que la exendina-4 presentó un efecto *in vivo* más potente y más prolongado que GLP-1 debido a su mayor estabilidad contra el polipéptido hidrolasa *in vivo* (DPP IV, NEP24.11 y similares). El documento PCT WO2004/022004 desvela el agonista del receptor de GLP-1 pegilado, y propone que, cuando se emplea polietilenglicol con un peso molecular superior a 30.000 daltons, es poco probable que se produzcan los efectos secundarios tales como las náuseas y los vómitos, causados por la activación del receptor de GLP-1 intracelular, con los derivados resultantes. Se indica que el agonista del receptor de GLP-1 pegilado no solo prolonga el tiempo de actuación *in vivo*, sino que también reduce al mínimo sus efectos secundarios. Sin embargo, este tipo de compuestos no muestra ninguna mejora en la estabilidad enzimática ni en la estabilidad química *in vivo* de su estructura principal polipeptídica, además de la limitación en su actividad *in vivo* o *in vitro*, lo que limita este tipo de compuesto que actúa como agente terapéutico de larga duración deseado. La reducida actividad *in vivo* e *in vitro* puede aumentar el coste de producción del agente terapéutico de larga duración. En vista de las razones anteriores, el uso de la estructura principal de la exendina-4 como precursor en la pegilación puede proporcionar una mayor probabilidad de éxito en la preparación del agente terapéutico de larga duración, en tanto en cuanto la estructura principal del polipéptido posee una mejor estabilidad enzimática. Aunque el documento PCT WO00/66629 desvela los compuestos resultantes y los métodos en los que la exendina-4 actúa como el precursor de la pegilación, todavía hay un largo camino por recorrer para preparar de manera satisfactoria un agente terapéutico de larga duración con un bajo coste de producción. Esto se debe a que es probable que se produzca la escisión en el resto His-Gly del extremo N por parte de la dipeptidil peptidasa (tal como la DPP IV), lo que vuelve al agonista del receptor de GLP-1 inactivo, independientemente de que la exendina-4 sea capaz de prolongar el tiempo de retención *in vivo* de unas cuantas horas a varias docenas de horas, o incluso más tiempo. Entretanto, el agonista del receptor de GLP-1 pegilado de larga duración debe tener una buena estabilidad química, especialmente a la temperatura *in vivo*, es decir, a 37 °C, lo que es muy necesario para la exendina-4, de la que el resto de metionina de la posición 14 de la estructura principal de la exendina-4 se somete fácilmente a oxidación, dando lugar a la mutación de su actividad biológica, mediante lo que la preparación del agente terapéutico se vuelve problemática; y además, la hidrólisis del resto de asparagina de la posición 28 es la causa principal de la inactivación del agente terapéutico, así como el problema de preparación, mostrándose el mecanismo de hidrólisis a continuación:

45



El mecanismo muestra que la hidrólisis del anillo de cinco miembros derivado de asparagina no solo reduce la actividad del agonista del receptor de GLP-1, sino que también provoca la separación del polietilenglicol de la estructura principal del polipéptido y, por lo tanto, afecta negativamente al tiempo de retención *in vivo* del compuesto de larga duración. Por consiguiente, la modificación de la glicina de la posición 2 mejora la estabilidad enzimática y química de la estructura principal del polipéptido exendina-4; y las modificaciones de la metionina de la posición 14 y de la asparagina de la posición 28 también mejoran la estabilidad química de la estructura principal del polipéptido exendina-4. El documento PCT WO00/66629 hace hincapié en la preparación de conjugado de polietilenglicol a través de la acilación con el grupo amino de la cadena lateral de lisina incorporada durante la pegilación de la exendina-4. Dado que la propia exendina-4 posee lisina, la selectividad de la reacción de acilación solo se puede

5
10

obtener con el uso adecuado de grupos protectores y, por lo tanto, hace que el coste de producción sea más elevado. Al localizar el punto de conexión del polietilenglicol para la modificación y el grupo regioespecífico en el extremo carboxilo (extremo C) del polipéptido, la acción entre el polipéptido y el receptor no se vería afectada por el polietilenglicol, mientras que se puede realizar una reacción regioespecífica, y reducirse así el coste de producción.

La presente descripción desvela una serie de derivados de exendina-4 pegilada en la posición 2, 14, 27 o 28, así como las exendinas obtenidas a partir de la pegilación realizada con estas estructuras principales de polipéptido. Estas exendinas pegiladas muestran un efecto *in vivo* de larga duración que se puede formular como agente terapéutico de larga duración para su uso en inyecciones.

Las exendinas de la presente invención permiten la activación *in vivo* e *in vitro* del receptor de GLP-1 que se ubica en la superficie de las células β , lo que permite además la secreción de insulina y, por lo tanto, reduce el nivel de glucosa en sangre. Los ejemplos de exendinas incluyen, pero sin limitación, las secuencias polipeptídicas de la Tabla 1, así como aquellos compuestos pegilados. La serina de la posición 39, donde tiene lugar la pegilación, se puede sustituir con cisteína u otro aminoácido sintético que contenga mercapto. Del mismo modo, se pueden realizar múltiples pegilaciones de la siguiente manera, en la que se añaden dos o más aminoácidos que contienen mercapto (tales como cisteína) en el terminal carboxilo, y los derivados de polipéptidos alargados resultantes pueden servir como el precursor de la pegilación. La fórmula general para el precursor de la modificación de dos sitios es $\text{Cys}_{(39)}\text{-(Xaa)}_{n-1}\text{-Cys}_{(n+39)}$, en la que $n = 0-10$ y Xaa es uno cualquiera de los aminoácidos.

Los polipéptidos anteriormente mencionados se pueden preparar mediante métodos sintéticos químicos que incluyen la síntesis en fase líquida del fragmento, la síntesis en fase sólida (véase Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 1963, 85: 2149-2154) o el método combinado de fase sólida y fase líquida; la síntesis de polipéptidos se puede realizar manual o automáticamente. Se puede emplear el sintetizador de polipéptidos 431A de Applied Biosystems, el sintetizador de polipéptidos Csbio y similares en la síntesis automática; y también se puede usar la síntesis combinatoria en la síntesis de polipéptidos.

Se requiere la purificación por HPLC preparativa para los polipéptidos preparados mediante el método sintético químico, y comúnmente se usan materiales de fase inversa como materiales de envasado de las columnas (tales como C_4 o C_8 o C_{18}). Los estudios *in vivo* e *in vitro* de la eficacia terapéutica solo están permitidos después de las caracterizaciones con identificaciones analíticas (tales como la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), la espectroscopia de masas (MS) y el análisis de aminoácidos (AAA)). Tras la purificación por HPLC preparativa, se pueden obtener productos tras la liofilización.

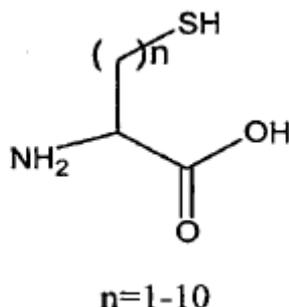
El polietilenglicol se puede adquirir en una variedad de proveedores o sintetizarse mediante métodos comunes. El peso molecular del polietilenglicol normalmente está en el intervalo de 5.000 a 80.000 daltons, preferentemente de 20.000 a 60.000 daltons, siendo más preferentemente de aproximadamente 40.000 daltons.

El polietilenglicol se debe conectar con el polipéptido en el extremo C del polipéptido para reducir al mínimo las interferencias causadas por el polietilenglicol en la acción entre el polipéptido y el receptor. Es decir, el polietilenglicol se puede conectar con cualquier resto situado entre las posiciones 29 y 39, lo que implica sustituciones de uno cualquiera o unos cuantos aminoácidos cualesquiera con aminoácido que contenga mercapto (tal como cisteína). En el caso de una sola pegilación, es mejor sustituir la serina situada en la posición 39 carboxi-terminal con cisteína. Del mismo modo, en el caso de la modificación de dos sitios, la mejor manera es sustituir la serina de la posición 39 con cisteína y añadir otra cisteína en la posición 40 o 39 + n ($n = 1-10$).

Los métodos de unión al polietilenglicol a través de cisteína o mercapto se describen ampliamente en muchas publicaciones (véase Veronese, "Biomaterials" 2001, 22: 405-417). Los expertos en la materia pueden ligar el polietilenglicol con exendinas que contienen mercapto.

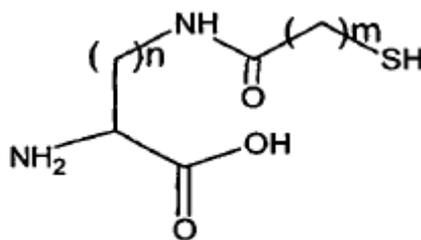
En particular, la unión a través del grupo mercapto se puede realizar de la siguiente manera:

1) El grupo mercapto se origina a partir de la cadena de polipéptido creada mediante la incorporación del aminoácido mencionado a continuación:



En este momento, el polietilenglicol debe poseer aceptor de la adición de Michael, tal como el doble enlace de grupos sustituidos con maleimida, halógeno o ésteres de ácidos sulfónicos. La unión se realiza mediante la formación de un enlace tioéter entre el polipéptido y el polietilenglicol.

- 2) El grupo mercapto se origina a partir de la cadena lateral del aminoácido de un polipéptido modificado, por ejemplo, el grupo mercapto se conecta con el grupo amino de la cadena lateral de lisina. El aminoácido con su cadena lateral modificada en forma de la siguiente fórmula:



$$n=1-10 \quad ; \quad m=1-10$$

En este momento, el polietilenglicol debe poseer aceptor de la adición de Michael, tal como el doble enlace de grupos sustituidos con maleimida, halógeno y ésteres de ácidos sulfónicos. La unión se realiza mediante la formación de un enlace tioéter entre el polipéptido y el polietilenglicol.

- 3) El grupo mercapto se origina a partir de polietilenglicol. En este momento, el punto de conexión del polipéptido debe contener aceptor de la adición de Michael, tal como el doble enlace en grupos sustituidos con maleimida, halógeno y sulfonato. La unión se realiza mediante la formación de un enlace tioéter entre el polipéptido y el polietilenglicol.
- 4) Si tanto el polietilenglicol como el polipéptido contienen grupos mercapto, la unión se puede realizar a través de la formación de enlace disulfuro asimétrico.

Preferentemente, el enlace covalente entre el polietilenglicol y el polipéptido de la presente invención se realiza mediante la formación de un enlace tioéter entre ellos. Sin embargo, no es la única manera de ligar polietilenglicol con la secuencia de polipéptido desvelada en la presente invención. En la presente invención, también se incluyen otros métodos de conexión tales como acilación, aminación reductora y formación de oximas.

Los derivados de polipéptidos que figuran en la Tabla 1 son precursores adecuados para la pegilación. Sin embargo, se incluyen en la presente invención solamente a modo ilustrativo, y la presente invención no se limita a estas secuencias. En la tabla de secuencias, las secuencias preferidas se seleccionan de SEC ID N° 80 a SEC ID N° 141.

Estas exendinas pegiladas y precursores polipeptídicos de las mismas son compuestos anfóteros que pueden reaccionar con ácidos o bases para formar sales. Los ácidos comúnmente empleados para la formación de sales se seleccionan entre ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido *p*-bromobenzenosulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético, ácido trifluoroacético y similares. Los ejemplos de estas sales incluyen sulfato, piro-sulfato, hidrosulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, hidrofosfato, fosfato dihidrico, metafosfato, pirofosfato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, acetato, propionato, caprato, caprilato, acrilato, formiato, isobutirato, caproato, heptilato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butin-1,4-dioato, hexin-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, *p*-metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, *r*-hidroxibutirato, glicerato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato y similares. La sal de adición de ácido preferida se selecciona entre clorhidrato, sulfato, acetato, trifluoroacetato. Las bases comúnmente empleadas para la formación de sales se seleccionan entre hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, amoníaco, carbonato de potasio y similares.

Las exendinas de la presente invención, en particular, las exendinas pegiladas, se pueden usar en la prevención y el tratamiento de la diabetes de tipo 2, especialmente para aquellos pacientes que presentan secreción anómala causada por el sobrepeso o incluso la obesidad, debido a su potencial en la recuperación de células β .

Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un método de tratamiento y prevención de la diabetes de tipo 2, en el que la dosis eficaz de las exendinas de la presente invención se administra a pacientes en necesidad de ello.

Las exendinas de la presente invención se pueden usar solas, y más adecuadamente se usan en combinación con otros medicamentos antidiabéticos (tales como agonista de PPAR, sulfonilurea, no sulfonilurea (secretagogos), inhibidor de α -glucosidasa, sensibilizador de la insulina, secretagogos de insulina, inhibidor de la liberación de glucógeno, insulina y otros medicamentos contra la obesidad) en el tratamiento de la diabetes.

La dosis clínica se debe determinar de acuerdo con la eficacia terapéutica real de los diversos compuestos, que está en el intervalo de 0,0001 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 0,001 mg/kg a 20 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de 0,01 mg a 1 mg/kg de peso corporal. Las vías de administración incluyen métodos de inyección (incluyendo la inyección intravenosa, intramuscular y subcutánea) u otros métodos de inyección continuos. Estos compuestos se pueden formular en una variedad de preparaciones, y administrarse por vías de administración convencionales tales como la administración oral y transdérmica, pulmonar, nasal, pulverizado bucal, administración de supositorios y similares.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el espectro de LC-MS de SEC ID N° 95.

La Figura 2 muestra la influencia del análogo de PEG-EX-4 en la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el primer día de la inyección subcutánea.

La Figura 3 muestra la influencia del análogo de PEG-EX-4 en la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el tercer día después de la inyección subcutánea.

La Figura 4 muestra la influencia del análogo de PEG-EX-4 en la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el sexto día después de la inyección subcutánea.

La Figura 5 muestra la influencia del análogo de PEG-EX-4 en la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el noveno día después de la inyección subcutánea.

La Figura 6 muestra el efecto de reducción sobre el nivel de glucosa en sangre de ratones tras la inyección subcutánea de análogo de PEG-EX-4 (1.100 µg/kg).

La Figura 7 muestra el efecto de reducción sobre el nivel de glucosa en sangre de ratones tras la inyección subcutánea de análogo de PEG-EX-4 (3.300 µg/kg).

Realizaciones preferidas de la invención

Los ejemplos proporcionados en el presente documento de aquí en adelante ayudan a comprender mejor la presente invención, y no pretenden limitar la presente invención.

Ejemplo 1

Síntesis en fase sólida del compuesto de SEC ID N° 95 de la presente invención

(1) monómeros de aminoácidos usados en la síntesis

Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-dAla-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Nle-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Arg (pbf)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH.

Abreviatura de lo anterior: Fmoc: 9-fluorenilmetoxicarbonilo; Boc: *tert*-butoxicarbonilo; Trt: tritilo; OtBu: *t*-butoxi; tBu: *t*-butilo.

(2) Los reactivos usados: *N,N*-diisopropiletilamina, diisopropilcarbodiimida (DIC), *N,N*-dimetilformamida (DMF), diclorometano, hexahidropiridina, 1-hidroxibenzotriazol, resina de amida de Rink, ninhidrina, metanol, anisol, triisopropilsilano, ácido trifluoroacético.

(3) Procedimiento experimental

A. Síntesis: A 0,5 g (0,25 mmol) de resina de amida de Rink en un recipiente de reactor, se añadió 1 mmol de aminoácido, se realizó la activación con el método de DIC/HOBT, y se realizó la síntesis desde el extremo C hasta el extremo N de acuerdo con la secuencia polipeptídica. La reacción se realizó a 25 °C (temperatura ambiente) siguiendo el siguiente procedimiento operativo:

1. Se desprotegió el grupo Fmoc mediante el tratamiento con hexahidropiridina al 20 % en DMF, 10 min cada vez.

2. Se lavaron las resinas con 10 ml de DMF tres veces, y después se secaron con bomba.

3. Se pesaron el aminoácido protegido (1 mmol) y HOBT (1 mmol), y luego se disolvieron en 10 ml de DMF seguido de la adición de DIC (1 mmol), y luego se activaron durante 10 minutos.

4. Se añadió la solución de aminoácidos activada al recipiente del reactor y luego se agitó durante 1 hora.

5. Se lavaron las resinas con DMF tres veces, y después se secaron con bomba.

6. En el caso de obtenerse un resultado negativo en el ensayo con ninhidrina, se repitieron las etapas 1-5, mientras que en el caso de obtenerse un resultado positivo en el ensayo de la ninhidrina, se repitieron las etapas 3-5.

Tras la síntesis de polipéptidos, se lavaron las resinas completamente con metanol y después se secaron al aire.

B. Desprotección de los grupos protectores y escisión de los polipéptidos

A 1 g de resina que tiene el polipéptido del recipiente del reactor, se añadió la solución de escisión en la siguiente proporción.

Disolventes	Cantidad (ml)
Anisol	2

Metanol	2
Trisopropilsilano	2
Ácido trifluoroacético	6

Se agitó el contenido del recipiente del reactor durante 2 horas a temperatura ambiente y después se filtró. Se recogió el filtrado y se lavaron las resinas con una pequeña cantidad de ácido acético. Se combinaron los fluidos recogidos. Después de la concentración, se añadió éter etílico y se generó un precipitado. Se lavó el precipitado con una pequeña cantidad de éter etílico, proporcionándose el producto en bruto.

5 C. Purificación por cromatografía líquida de alta resolución y liofilización

Se disolvió el producto en bruto resultante en solución de ácido acético al 10 %, se inyectó la solución en el sistema de HPLC para su purificación, tras lo que se liofilizó, proporcionando el producto. Se analizó el polipéptido resultante y se confirmó como el compuesto deseado usando cromatografía-espectrometría de masas.

10 Columna: Luna C18 (2), 5 μ , 100 Å.

Longitud de onda de detección: λ = 220 nm, sistema preparativo Waters.

Gradiente: (TFA: ácido trifluoroacético)

T (minuto)	A: (TFA al 0,05 %) CH ₃ CN	B: (TFA al 0,05 %) H ₂ O
0	10 %	90 %
20	45 %	55 %
30	45 %	55 %
30,1	10 %	90 %

15 El peso molecular del compuesto resultante: 4212,6 g/mol; el peso molecular teórico: 4.213 g/mol.
FIG. 1: espectro de LC-MS de SEC ID N° 95.

Ejemplo 2

20 Método para la pegilación de exendinas

La pegilación de exendinas se puede realizar con el método convencional. La pegilación de péptidos se realiza modificando el grupo mercapto en la formación de un enlace tioéter entre el polietilenglicol y el péptido. Para ser más concretos, se añaden una o más cisteínas al extremo carboxilo de los derivados de exendina-4 optimizados, seguido de la pegilación realizada mediante el uso de polietilenglicol que contiene el grupo funcional de maleimida. El enlace tioéter se formó después de la reacción de adición de Michael, y de ese modo, se unió covalentemente el polipéptido con el polietilenglicol. En general, se disolvió el polipéptido deseado en solución de tampón fosfato 0,1 M, tras lo que se añadió polietilenglicol en un entorno anaeróbico. La proporción molar del polietilenglicol con respecto al polipéptido fue de 1:1, y el pH de la reacción fue de 6 a 7,5. La oxidación del grupo mercapto se puede reducir mediante la adición de EDTA a la solución de reacción. Tras dos horas, se purificó la solución de reacción con el sistema de HPLC de fase inversa. Se separó el polietilenglicol en exceso o sin reaccionar mediante cromatografía de intercambio iónico. Se analizó el peso molecular del producto resultante y se confirmó por espectro de masas. Se analizó la pureza del producto con RP-HPLC y cromatografía de gel. Tomando la modificación de SEC ID N° 95 como ejemplo, cuando se empleó PEG de 43 kD en la modificación, el rendimiento fue del 70-90 % (basado en el polietilenglicol).

Ejemplo 3

40 Ensayo para la estabilidad del polipéptido

Los derivados de exendina-4 de la presente invención poseen la estabilidad enzimática y química optimizada. Se usó el siguiente método para determinar la estabilidad química de algunos polipéptidos de la presente invención.

45 Se disolvió 1 mg de cada muestra en una solución tampón que contenía cloruro de sodio 150 mM y fosfato 20 mM, a partir de la cual se preparó una solución de concentración de 4 mg/ml y pH de 8,0. Se dispusieron las soluciones de muestra de ensayo en un termostato a 40 °C. Se usó la LC-MS para determinar la pureza del polipéptido. La correlación entre la proporción de reducción del área del pico principal y el tiempo refleja la estabilidad química del polipéptido.

50 Tabla 2: Determinación de la estabilidad de los compuestos a base de exendina-4

Pureza (%)	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15
Muestra 1	98,2	88,0	81,6	76,2
Muestra 2	98	93,1	90,4	88,2
Muestra 3	98,9	98,8	98,8	98,8
Muestra 4	99,7	99,4	99,0	99,3

en la que la muestra 1 es exendina-4 como control, y la secuencia es:

5 His-Gly²-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met¹⁴-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn²⁸-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser³⁹.

Muestra 2: se sustituyó Gly N° 2 de la muestra 1 con d-Ala, y el N° 39 se sustituyó con Cys.

Muestra 3: se sustituyó Gly N° 2 de la muestra 1 con d-Ala y el N° 14 se sustituyó con Ile, Asn N° 28 se sustituyó con Gln.

10 Muestra 4: la muestra 2 se une covalentemente con PEG40K a través de Cys en el extremo C de la muestra 2; en la que todo el extremo C de las muestras 1-4 son amida.

Conclusión:

15 La secuencia de la muestra 1 es una secuencia polipeptídica que se puede aislar de la naturaleza. El resto His-Gly del extremo N es un sustrato ideal para dipeptidasa, y la Met, contenida en la muestra 1, sufre fácilmente oxidación, y también Asn sufre fácilmente una autorreacción, lo que hace que la muestra 1 sea inestable. La sustitución en la posición 2 o 14 o 28 mejora en gran medida la estabilidad de los péptidos. Además, la sustitución en las 3
20 posiciones permite una mayor mejora en la estabilidad de los péptidos que solo la sustitución de His-Gly con His-dAla. Aunque la muestra 2 no es muy estable, se vuelve muy estable tras la unión con PEG40K (es decir, la muestra 4), lo que demuestra que PEG es útil en la mejora de la estabilidad del polipéptido.

Ejemplo 4

25 Formulación:

Análogo de PEG-EX-4	5 g
m-Cresol	0,04 g
Ácido acético helado	Cantidad apropiada
Acetato de sodio helado	Cantidad apropiada
Agua para inyección	Cantidad apropiada
100 ml/100 botellas	

Preparación estéril

Ejemplo experimental 1

30

Ensayo de tolerancia a la glucosa oral de polipéptido

Se modificó el polipéptido de SEC ID N° 25 con polietilenglicol de peso molecular de aproximadamente 40.000 (muestra 5). A continuación, se realizó un ensayo de tolerancia a la glucosa oral con ratones normales y los
35 resultados se presentaron en las siguientes tablas:

Tabla 1. Se administraron inyecciones subcutáneas de muestra 5 con diversas dosis a ratones normales. Se dieron las influencias sobre la tolerancia a la glucosa oral y el área bajo la curva del nivel de glucosa en sangre el primer día y el tercer día tras las inyecciones subcutáneas.

40

(Primer día)

Grupo	Nivel de glucosa en sangre (mg/dl)				AUC (mg.h/dl)
	0 min	30 min	60 min	120 min	
Solución fisiológica salina	129,7 ± 8,1	223,2 ± 33,4	167,7 ± 34,5	98,1 ± t2,1	318,8 ± 42,9

ES 2 541 633 T3

Muestra 5 (20)	116,6 ± 10,8	895,7 ± 9,9***	88,9 ± 28,6***	65,4 ± 5,1***	176,4 ± 22,0***
Muestra 5 (80)	122,2 ± 9,1	92,1 ± 12,4***	76,7 ± 8,7***	64,9 ± 7,5***	166,6 ± 16,7***

frente a Con *** P < 0,001; n = 10

(Tercer día)

Grupo	Nivel de glucosa en sangre (mg/dl)				AUC (mg.h/dl)
	0 min	30 min	60 min	120 min	
Solución fisiológica salina	97,3 ± 19,8	193,6 ± 35,3	171,0 ± 46,7	91,8 ± 18,8	295,3 ± 54,0
Muestra 5 (20)	96,2 ± 8,6	172,8 ± 33,2	132,1 ± 12,4*	88,3 ± 7,8	253,6 ± 24,4*
Muestra 5 (80)	89,5 ± 9,3	1.493 ± 32,4**	108,6 ± 8,8***	77,1 ± 8,4*	217,0 ± 21,9***

frente a Con, *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001; n = 10.

5 Ejemplo experimental 2

Influencia del análogo de PEG-EXENDINA-4 (PEG-EX-4) en ratones db/db con diabetes de tipo 2

10 1. Animales del ensayo: especies, cepas: ratones db/db, fuente: Centro de modelos animales de la Universidad de Nanjing, peso corporal de los ratones: 35 g-50 g, machos y hembras a partes iguales. Número de animales: 45, 5-6 ratones por grupo. Condiciones de crianza: crianza en alojamiento para animales de calidad SPF, temperatura: 22 °C-24 °C, humedad: 45 %-80 %, iluminación: 150 Lx-300 Lx, en condiciones de ciclo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

15 2. Método de ensayo:

Establecimiento de la dosis: 5 grupos de administración: 0,03, 0,1, 0,3, 1 y 3 mg/kg; así como un grupo control en blanco; vía de administración: inyección subcutánea; volumen de administración: 0,05 ml/kg de peso corporal.

20 (1) Influencia sobre el nivel de glucosa en sangre de ratones db/db no en ayunas

25 De acuerdo con el nivel de glucosa en sangre no en ayunas y el peso corporal de los ratones, se dividieron ratones db/db entre el grupo de control en blanco y otros 5 grupos para administrarles análogo de PEG-EX-4, 6 ratones en cada grupo, y machos y hembras a partes iguales. Los animales de cada grupo recibieron el fármaco de ensayo y solución salina fisiológica, respectivamente, mediante una sola inyección subcutánea. Se detectó el nivel de glucosa en sangre antes de la administración y también 1, 2, 4, 8, 24 horas después de la administración. Tras ello, se detectó el nivel de glucosa en sangre no en ayunas cada 24 horas. Se observaron el tiempo de duración de la reducción del nivel de glucosa en sangre de los fármacos de ensayo, así como la variación en la ingesta de alimento y los pesos corporales después de la administración.

30 (2) Influencia sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones db/db en ayunas

35 De acuerdo con el nivel de glucosa en sangre en ayunas y no en ayunas, y el peso corporal de los ratones, se dividieron ratones db/db entre el grupo control en blanco y otros 5 grupos para administrarles análogo de PEG-EX-4, 6 ratones en cada grupo, y machos y hembras a partes iguales. Después de ayunar durante 5 horas, los animales de cada grupo recibieron el fármaco de ensayo y solución salina fisiológica, respectivamente, mediante una sola inyección subcutánea. Se detectó el nivel de glucosa en sangre antes de la administración y también 1 y 2 horas después de la administración. Tras ello, se detectó el nivel de glucosa en sangre en ayunas y no en ayunas cada 24 horas. Se observaron el tiempo de duración de la reducción del nivel de glucosa en sangre del fármaco de ensayo, así como la variación en la ingesta de alimento y los pesos corporales después de la administración.

(3) Influencia sobre el nivel de glucosa en sangre en ayunas de ratones db/db

45 De acuerdo con el nivel de glucosa en sangre en ayunas y el peso corporal de los ratones, se dividieron ratones db/db entre el grupo control en blanco y otros 5 grupos para administrarles análogo de PEG-EX-4, y 5 ratones en cada grupo. Después de ayunar durante 5 horas, los animales de cada grupo recibieron el fármaco de ensayo y solución salina fisiológica, respectivamente, mediante una sola inyección subcutánea. Recibieron 2,5 g/kg de glucosa por vía oral 15 minutos después de la administración anterior. Tras ello, se detectó el nivel de glucosa en sangre inmediatamente después de la ingestión de la glucosa (0 min) y también 30, 60 y 120 minutos después de la ingestión de glucosa. Se realizó un ensayo de tolerancia a la glucosa oral el tercer día, el sexto día y el noveno día, respectivamente, después de la administración del fármaco. Se observaron las influencias del fármaco de ensayo

sobre la tolerancia a la glucosa de db/db, así como el tiempo de duración y la variación en la ingesta de alimento y los pesos corporales después de la administración.

5 3. Resultados de los ensayos: los resultados de las influencias del análogo de PEG-EX-4 en el nivel de glucosa en sangre de los ratones db/db se presentaron y resumieron en las Figuras 2-5 y las Tablas 1-6.

(1) Influencia sobre el nivel de glucosa en sangre de ratones db/db en ayunas y no en ayunas

Tabla 1: Influencia de la inyección subcutánea de análogo de PEG-EX-4 sobre el nivel de glucosa en sangre en ayunas de ratones db/db (valor medio \pm DE, n = 6)

Grupo	Dosis $\mu\text{g}/\text{kg}$	Antes de la administración	Después de la administración (h)			
			0	1	2	24
Control en blanco	-	11,533 \pm 5,73	11,77 \pm 6,69	10,27 \pm 7,16	11,07 \pm 4,46	10,07 \pm 4,66
Análogo de PEG-EX-4	0,03	11,28 \pm 2,68	8,40 \pm 2,02	6,75 \pm 2,02	8,58 \pm 2,17	10,97 \pm 4,09
	0,1	11,08 \pm 5,65	6,70 \pm 4,35	5,85 \pm 4,60	9,12 \pm 4,84	11,23 \pm 5,89
	0,3	11,15 \pm 3,33	5,13 \pm 1,83*	3,78 \pm 0,73	5,80 \pm 2,63*	6,77 \pm 2,18
	1	11,42 \pm 3,74	4,73 \pm 1,91*	3,78 \pm 0,83	3,93 \pm 0,95**	5,03 \pm 1,36*
	3	11,00 \pm 3,66	3,62 \pm 1,07*	3,05 \pm 0,67*	4,03 \pm 1,20**	3,65 \pm 0,76**

Grupo	Dosis $\mu\text{g}/\text{kg}$	72	Después de la administración (h)				
			96	120	144	168	192
Control en blanco	-	11,53 \pm 6,33	14,90 \pm 6,81	14,32 \pm 6,61	14,38 \pm 5,10	13,53 \pm 7,04	13,20 \pm 6,27
Análogo de PEG-EX-4	0,03	-	-	-	-	-	-
	0,1	-	-	-	-	-	-
	0,3	8,27 \pm 2,59	10,60 \pm 3,04	11,15 \pm 4,98	11,70 \pm 3,76	12,60 \pm 3,84	-
	1	7,15 \pm 3,10	8,07 \pm 2,29*	8,13 \pm 1,21*	10,75 \pm 1,87	11,07 \pm 2,65	12,12 \pm 1,31
	3	5,80 \pm 2,19	6,03 \pm 1,09*	5,70 \pm 2,23 ⁴	7,70 \pm 2,64*	9,17 \pm 2,32	11,43 \pm 2,26

Tabla 2: Influencia de inyecciones subcutáneas de análogo de PEG-EX-4 sobre el nivel de glucosa en sangre no en ayunas diario de ratones db/db
(valor medio \pm DE, n = 6)

Grupo	Dosis μ g/kg	Antes de la administración	Después de la administración (h)									
			24	48	72	96	120	144	168			
Control en blanco	-	14,70 \pm 6,87	17,18 \pm 4,47	15,22 \pm 5,16	15,45 \pm 6,02	16,13 \pm 6,96	15,12 \pm 8,05	15,45 \pm 5,91	15,25 \pm 6,17	-	-	-
Análogo de PEG-EX-4	0,03	14,73 \pm 5,00	13,42 \pm 4,19	12,88 \pm 4,50	1,5,92 \pm 5,39	-	-	-	-	-	-	-
	0,1	14,52 \pm 6,01	15,32 \pm 6,62	16,22 \pm 3,61	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,3	14,08 \pm 2,66	11,35 \pm 5,96	11,57 \pm 3,07	15,78 \pm 3,56	15,17 \pm 2,60	14,17 \pm 4,48	13,53 \pm 4,50	13,72 \pm 3,89	-	-	-
	1	14,30 \pm 3,79	7,02 \pm 2,49***	9,17 \pm 4,45	13,73 \pm 7,09	13,63 \pm 5,48	12,28 \pm 4,30	12,50 \pm 5,06	12,68 \pm 2,73	-	-	-
	3	14,10 \pm ,86	5,65 \pm 1,73***	7,48 \pm ,15*	9,87 \pm 4,74	13,42 \pm 4,89	11,92 \pm 5,10	12,93 \pm 3,72	15,27 \pm 2,58	-	-	-

(2) Influencia en el nivel de glucosa en sangre en ayunas de ratones db/db

Tabla 3: Influencias del análogo de PEG-EX-4 sobre la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el primer día después de la inyección subcutánea (valor medio ± DE, n = 5)

Grupo	Dosis µg/kg	Antes de la administración				AUC
		0	30	60	120	
Control en blanco	-	11,66 ± 4,74	22,36 ± 5,76	14,84 ± 7,40	12,74 ± 5,10	31,60 ± 11,67
Análogo de PEG-EX-4	0,03	11,64 ± 4,51	22,28 ± 6,34	13,44 ± 7,47	9,62 ± 8,27	28,94 ± 13,98
	0,1	11,54 ± 1,80	20,92 ± 2,99	10,66 ± 1,86	6,02 ± 1,25*	24,35 ± 3,51
	0,3	11,18 ± 4,62	18,10 ± 1,67	9,06 ± 2,23	5,34 ± 1,34*	21,31 ± 4,01
	1	11,54 ± 2,50	16,82 ± 2,38	9,12 ± 4,60	5,26 ± 2,54*	20,77 ± 6,28
	3	11,18 ± 4,37	16,54 ± 4,40	9,10 ± 3,21	4,44 ± 1,74*	20,11 ± 5,98

5

Tabla 4: Influencia del análogo de PEG-EX-4 sobre la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el tercer día después de la inyección subcutánea (valor medio ± DE, n = 5)

Grupo	Dosis µg/kg	Antes de la administración				AUC
		0	30	60	120	
Control en blanco	-	13,34 ± 6,85	22,28 ± 5,59	18,16 ± 6,55	14,06 ± 4,94	35,13 ± 11,22
Análogo de PEG-EX-4	0,03	11,50 ± 4,75	21,40 ± 4,06	18,64 ± 5,97	13,94 ± 6,10	34,53 ± 10,64
	0,1	10,38 ± 3,65	19,66 ± 7,27	18,06 ± 2,45	11,72 ± 4,58	31,83 ± 8,03
	0,3	7,72 ± 2,77	19,52 ± 2,40	16,24 ± 5,68	12,16 ± 5,76	29,95 ± 8,80
	1	5,88 ± 0,92*	20,18 ± 2,82	8,50 ± 2,88*	7,04 ± 1,71 *	21,46 ± 4,02*
	3	5,50 ± 2,29*	18,24 ± 5,05	9,74 ± 5,57	7,72 ± 4,98	21,66 ± 9,51

Tabla 5: Influencia del análogo de PEG-EX-4 sobre la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el sexto día después de la inyección subcutánea (valor medio ± DE, n = 5)

Grupo	Dosis µg/kg	Antes de la administración				AUC
		0	30	60	120	
Control en blanco	-	14,20 ± 6,56	22,96 ± 2,86	18,70 ± 7,15	13,70 ± 7,12	35,91 ± 11,33
Análogo de PEG-EX-4	0,03	12,62 ± 7,38	22,28 ± 4,45	17,62 ± 5,40	11,50 ± 6,38	33,26 ± 10,59
	0,1	14,60 ± 3,49	25,62 ± 2,45	19,76 ± 2,56	14,12 ± 2,05	38,34 ± 4,32
	0,3	11,50 ± 4,55	23,58 ± 1,89	18,94 ± 3,86	12,42 ± 4,99	35,08 ± 7,04
	1	8,12 ± 1,22	26,34 ± 2,09	16,54 ± 3,65	9,68 ± 2,63	32,45 ± 4,92
	3	5,80 ± 1,48*	23,66 ± 4,50	11,66 ± 4,37	7,28 ± 2,40	25,67 ± 6,94

Tabla 6: Influencia del análogo de PEG-EX-4 sobre la tolerancia a la glucosa de ratones db/db el noveno día después de la inyección subcutánea (valor medio ± DE, n = 5)

Grupo	Dosis µg/kg	Antes de la administración				AUC
		0	30	60	120	
Control en blanco	-	12,04 ± 8,47	25,90 ± 4,16	18,52 ± 8,29	14,04 ± 7,91	36,87 ± 14,14

Análogo de PEG-EX-4	1	9,60 ± 1,16	24,86 ± 1,67	17,90 ± 2,92	12,28 ± 4,08	34,40 ± 4,89
	3	9,36 ± 3,66	23,46 ± 2,41	15,60 ± ,02	11,84 ± 4,35	31,69 ± 6,64

*, P < 0,05;

**, P < 0,01;

***, P < 0,001, en comparación con el grupo de control en blanco

Ejemplo experimental 3

5 Resultados del ensayo preliminar de la influencia del análogo de PEG-EXENDINA-4 (PEG-EX-4) sobre el nivel de glucosa en sangre de ratones KKAy

1. Métodos de ensayo:

10 Se administraron inyecciones subcutáneas individuales de análogo de PEG-EX-4 a varias dosis a ratones normales. Se detectó la variación en el nivel de glucosa en sangre en diferentes momentos después de la inyección.

2. Resultados de los ensayos:

15 (1) Véase la Figura 6, el nivel de glucosa en sangre reducido de los ratones KKAy dura de 3 a 4 días después de la inyección subcutánea de análogo de PEG-EX-4 (1.100 g/kg).

(2) Véase la Figura 7, el nivel de glucosa en sangre reducido de los ratones KKAy dura de 3 a 4 días después de la inyección subcutánea de análogo de PEG-EX-4 (3.300 g/kg).

Tabla 7: Se dieron las secuencias de aminoácidos de dichas exendinas de larga duración de la presente invención.

Número de serie	Secuencias	SEC ID N°
HR1	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS	4
HR2	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPC	5
HR3	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPCC	6
HR4	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhC	7
HR5	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhChC	8
HR6	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*	9
HR7	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*K*	10
HR8	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPC-NH ₂	11
HR9	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPCC-NH ₂	12
HR10	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhC-NH ₂	13
HR11	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhChC-NH ₂	14
HR12	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*-NH ₂	15
HR13	HGEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*K*- NH ₂	16
HR14	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS	17
HR15	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPC	18
HR16	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPCC	19
HR17	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhC	20
HR18	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhChC	21
HR19	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*	22
HR20	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*K*	23
HR21	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS-NH ₂	24
HR22	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPC-NH ₂	25
HR23	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPCC- NH ₂	26
HR24	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhC- NH ₂	27
HR25	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhChC-NH ₂	28
HR26	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*- NH ₂	29
HR27	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*K*- NH ₂	30
HR28	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS	31
HR29	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPC	32
HR30	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPCC	33
HR31	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhC	34
HR32	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhChC	35
HR33	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*	36
HR34	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPK*K*	37
HR35	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS- NH ₂	38
HR36	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPC- NH ₂	39
HR37	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPCC- NH ₂	40
HR38	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPPhC- NH ₂	41

ES 2 541 633 T3

Número de serie	Secuencias	SEC ID N°
HR39	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPhChC-NH ₂	42
HR40	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPK*- NH ₂	43
HR41	HGEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPK*K*- NH ₂	44
HR42	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS	45
HR43	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	46
HR44	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	47
HR45	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhC	48
HR46	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhChC	49
HR47	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*	50
HR48	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*K*	51
HR49	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS-NH ₂	52
HR50	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC-NH ₂	53
HR51	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC-NH ₂	54
HR52	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhC-NH ₂	55
HR53	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhChC-NH ₂	56
HR54	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*-NH ₂	57
HR55	HGEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*K*-NH ₂	58
HR56	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPS	59
HR57	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPC	60
HR58	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPC	61
HR59	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPhC	62
HR60	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPhChC	63
HR61	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPK*	64
HR62	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPK*K*	65
HR63	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPS-NH ₂	66
HR64	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPC-NH ₂	67
HR65	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPC-NH ₂	68
HR66	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPhC-NH ₂	69
HR67	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPhChC-NH ₂	70
HR68	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPK*- NH ₂	71
HR69	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKNGG PSSGAPPK*K*-NH ₂	72
HR70	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS	73
HR71	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	74
HR72	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	75
HR73	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhC	76
HR74	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhChC	77
HR75	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*	78
HR76	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*K*	79
HR77	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS-NH ₂	80
HR78	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC-NH ₂	81
HR79	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC-NH ₂	82
HR80	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhC-NH ₂	83
HR81	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhChC-NH ₂	84
HR82	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*-NH ₂	85
HR83	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*K*-NH ₂	86
HR84	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS	87
HR85	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	88
HR86	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	89
HR87	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhC	90
HR88	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhChC	91
HR89	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*	92
HR90	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*K*	93
HR91	HdAEGTFTSDL SKQMEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS-NH ₂	94
HR92	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC-NH ₂	95
HR93	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC-NH ₂	96
HR94	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhChC-NH ₂	97
HR95	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*-NH ₂	98
HR96	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPK*K*-NH ₂	99
HR97	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPS	100
HR98	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	101
HR99	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPC	102
HR100	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPhC	103

ES 2 541 633 T3

Número de serie	Secuencias	SEC ID N°
HR101	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPhChC	104
HR102	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPK*	105
HR103	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPK*K*	106
HR104	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPS-NH ₂	107
HR105	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPC-NH ₂	108
HR106	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPCC-NH ₂	109
HR107	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPhC-NH ₂	110
HR108	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPhChC-NH ₂	111
HR109	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPK*-NH ₂	112
HR110	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLQKGG PSSGAPPPK*K*NH ₂	113
HR111	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPS	114
HR112	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPC	115
HR113	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPCC	116
HR114	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhC	117
HR115	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhChC	118
HR116	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*	119
HR117	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*K*	120
HR118	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPS-NH ₂	121
HR119	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPC-NH ₂	122
HR120	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPCC-NH ₂	123
HR121	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhC-NH ₂	124
HR122	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhChC-NH ₂	125
HR123	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*-NH ₂	126
HR124	HdAEGTFTSDL SKQMEEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*K*-NH ₂	127
HR125	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPS	128
HR126	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPC	129
HR127	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPCC	130
HR128	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhC	131
HR129	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhChC	132
HR130	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*	133
HR131	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*K*	134
HR132	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPS-NH ₂	135
HR133	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPC-NH ₂	136
HR134	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPCC-NH ₂	137
HR135	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhC-NH ₂	138
HR136	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPhChC-NH ₂	139
HR137	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*-NH ₂	140
HR138	HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEAVR LFIEWLVKGG PSSGAPPPK*K*-NH ₂	141

En la Tabla 7, C, hC, K* son los sitios de modificación para la pegilación. C es cisteína; hC es homocisteína y K* es lisina con una cadena lateral modificada, tal como el ácido mercaptopropiónico del grupo amino de la cadena lateral de lisina. CC, hChC o K*K* de la secuencia representan dos sitios de modificación para la pegilación. Nle es norleucina, dAlea es D-alanina, -NH₂ es una amida del extremo C.

5

Listado de secuencias

<110> wuxi Grandchamp pharmaceutical Co., LTD.

<120> Exendinas modificadas y usos de las mismas

5

<160> 141

<170> PatentIn versión 3.3

10

<210> 1

<211> 30

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<400> 1

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1

5

10

15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg

20

25

30

20

<210> 2

<211> 31

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<400> 2

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1

5

10

15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

20

25

30

30

<210> 3

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35

<400> 3

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

35 40

<210> 10
<211> 40
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 10

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

10 35 40

<210> 11
<211> 39
15 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 11

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

20 <210> 12
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <400> 12

ES 2 541 633 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys
35 40

5 <210> 17
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 17

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

10 35

15 <210> 18
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 18

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

<210> 19

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 19

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

35

40

10

<210> 20

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<400> 20

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

20

<210> 21

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<400> 21

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
 35

5 <210> 26
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<400> 26

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
 10 35 40

15 <210> 27
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<400> 27

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

<210> 28

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 28

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

35

40

10

<210> 29

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<400> 29

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

20

<210> 30

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<400> 30

ES 2 541 633 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

<210> 35
<211> 40
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 35

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

10 35 40

<210> 36
<211> 39
15 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 36

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

<210> 37

<211> 40

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 37

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

10

<210> 38

<211> 39

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<400> 38

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

20

<210> 39

<211> 39

<212> PRT

ES 2 541 633 T3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

<210> 42
<211> 40
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 42

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
10 35 40

<210> 43
<211> 39
15 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 43

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys
 35

<210> 44
 <211> 40
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<400> 44

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys
 10 35 40

<210> 45
 <211> 39
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<400> 45

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 20 35

<210> 46

ES 2 541 633 T3

<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <400> 46

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

10 <210> 47
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <400> 47

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

20 <210> 48
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 48

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

<210> 51

<211> 40

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 51

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

10

<210> 52

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<400> 52

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

ES 2 541 633 T3

<210> 53
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5 <400> 53

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

10 <210> 54
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <400> 54

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

20 <210> 55
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <400> 55

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 60

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 60

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

10 <210> 61

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <400> 61

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

35

40

ES 2 541 633 T3

<210> 62
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5
<400> 62

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

10 <210> 63
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <400> 63

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

35

40

20 <210> 64
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 64

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

<210> 69
<211> 39
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 69

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

10 <210> 70
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <400> 70

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

35

40

<210> 71

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 71

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

10 <210> 72

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <400> 72

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu

1

5

10

15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser

20

25

30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

<210> 73

20 <211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 541 633 T3

<400> 73

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 74

5 <211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 74

10

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

<210> 75

<211> 40

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<400> 75

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

<210> 76

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 76

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

10 <210> 77

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <400> 77

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

ES 2 541 633 T3

<210> 78
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5
<400> 78

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

10 <210> 79
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <400> 79

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

20 <210> 80
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 80

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

<210> 85

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 85

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys
35

10 <210> 86

<211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <400> 86

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys
35 40

ES 2 541 633 T3

<210> 87
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5
<400> 87

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

10 <210> 88
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15 <400> 88

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

20 <210> 89
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 89

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys
35 40

<210> 94

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 94

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

10

<210> 95

<211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<400> 95

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

ES 2 541 633 T3

<210> 96
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5
 <400> 96

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
 35 40

10
 <210> 97
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15
 <400> 97

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
 1 5 10 15
 Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Gln Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
 35 40

20
 <210> 98
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<400> 98

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

<210> 103

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 103

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

<210> 104

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 104

35

40

15

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys 35 40

<210> 105

20 <211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 105

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu

1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

<210> 106

5 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 106

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu

10 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser

20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

<210> 107

<211> 39

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<400> 107

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

35

<210> 108

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 108

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

<210> 109

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 109

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

<210> 110

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 110

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

<210> 111

10 <211> 40

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 111

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

15 <210> 112

<211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <400> 112
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

<210> 113
 <211> 40
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<400> 113
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Gln Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

15 <210> 114
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<400> 114

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys
35 40

<210> 119
<211> 39
<212> PRT
5 <213> Secuencia artificial

<400> 119
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys
35

10 <210> 120
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 120
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
15 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys
35 40

<210> 121
<211> 39

ES 2 541 633 T3

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 121
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser

5 35
<210> 122
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10
<400> 122
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

15 35
<210> 123
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 123

ES 2 541 633 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys
35 40

<210> 128

<211> 39

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 128

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 129

10 <211> 39

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<400> 129

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys
35

15 <210> 130

<211> 40

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 130
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

5 35 40

<210> 131
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10
<400> 131
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys

35

15
<210> 132
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<400> 132
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Cys Cys

20 35 40

ES 2 541 633 T3

<210> 133
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<400> 133
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

<210> 134
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<400> 134
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35

40

<210> 135
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

15

20 <400> 135

<210> 140
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<400> 140
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys

35

<210> 141
<211> 40
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<400> 141
His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Nle Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Lys Lys

35 40

15 1

REIVINDICACIONES

1. Una exendina modificada, en la que la secuencia de aminoácidos de la exendina modificada se selecciona entre:

- 5 SEC ID N° 95: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPC-NH₂,
SEC ID N° 88: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPC,
SEC ID N° 89: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPCC y
SEC ID N° 96: HdAEGTFTSDL SKQNIeEEEEAVR LFIEWLKQGG PSSGAPPPCC-NH₂.

10 2. La exendina modificada de la reivindicación 1 que comprende además polietilenglicol con un peso molecular de 20.000 a 60.000 daltons para la modificación.

3. La exendina modificada de la reivindicación 2, en la que el polietilenglicol está conectado a un grupo regioespecífico del extremo carboxilo de la secuencia de aminoácidos de la exendina modificada.

15 4. Una exendina modificada o sales farmacéuticamente aceptables de la misma de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de la diabetes de tipo 2 de un paciente.