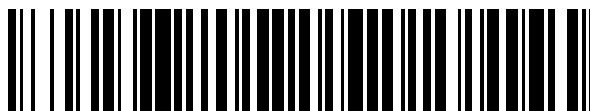


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 259**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/605** (2006.01)

**A61K 38/26** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2011 E 11774275 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2015 EP 2565205**

54 Título: **Análogo del péptido similar al glucagón-1 y uso del mismo**

30 Prioridad:

**27.04.2010 CN 201010156732**

**30.03.2011 CN 201110078365**

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

**15.10.2015**

73 Titular/es:

**BETTA PHARMACEUTICALS CO., LTD. (100.0%)  
589 Hongfeng Rd., Yuhang  
Hangzhou, Zhejiang 311100, CN**

72 Inventor/es:

**WANG, YINXIANG;  
TAN, FENLAI;  
HU, SHAOJING;  
ZHAO, XIANGDONG;  
MA, CUNBO;  
WANG, YANPING;  
SHEN, XIAOYAN;  
DING, LIEMING;  
HU, YUNYAN;  
CAO, HONG y  
LONG, WEI**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 548 259 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**

Análogo del péptido similar al glucagón-1 y uso del mismo

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a análogos del péptido similar al glucagón-1 y uso de los mismos.

**5 Antecedentes de la invención**

La diabetes se ha convertido en la tercera enfermedad clasificada no contagiosa después de las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares y tumores. La OMS predice que para el año 2030, la población de pacientes con diabetes en todo el mundo será de más de 360 millones, más del 90 % de los cuales tendrán diabetes de tipo II. La diabetes de tipo II se refiere a diabetes mellitus no dependiente de insulina o diabetes de inicio en edad adulta, y se está volviendo más frecuente. La diabetes de tipo II está incrementándose a un ritmo alarmante. A pesar del avance en el tratamiento de la diabetes, los episodios hipoglucémicos a menudo son el factor limitante en el logro de un control de azúcar en sangre óptimo. Para abordar la limitación del tratamiento de la diabetes actual, se ha hecho mucho progreso en la investigación del péptido similar al glucagón-1 (péptido similar al glucagón-1, denominado GLP-1). El GLP-1 se secreta como hormona intestinal por las células L intestinales. Es una potente hormona antihiper glucémica que induce la estimulación dependiente de glucosa de la promoción de la secreción de insulina mientras que suprime la secreción de glucagón. El GLP-1 parece restablecer la sensibilidad a la glucosa de células β pancreáticas, con el mecanismo implicando posiblemente la expresión incrementada de GLUT2 y glucocinasa. El GLP-1 también se sabe que inhibe la apoptosis de células β pancreáticas y estimula la proliferación y diferenciación de células β secretoras de insulina. La secreción de GLP-1, desempeña un papel importante en la patogenia de la diabetes de tipo II. Se ha evidenciado que la secreción del GLP-1 a partir de células L es reducida en pacientes con diabetes de tipo II aunque todavía es insulínica en T2DM han dado lugar a diversas hipótesis sobre cómo afecta esto a la eficacia clínica estimada de estos fármacos novedosos. La secreción de GLP-1 por células L intestinales en la circulación es dependiente de la presencia de nutrientes en la luz del intestino delgado. Los secretagogos (agentes que provocan o estimulan la secreción) de esta hormona incluyen nutrientes principales, como hidratos de carbono, proteínas y lípidos. Es una potente hormona antihiper glucémica, que induce la estimulación dependiente de glucosa de la secreción de insulina mientras que suprime la secreción de glucagón. Dicha acción dependiente de glucosa es particularmente atractiva como tratamiento novedoso de la diabetes, debido a que cuando la concentración de glucosa en plasma está en el intervalo de ayuno normal, el GLP-1 ya no estimula la insulina para provocar hipoglucemia.

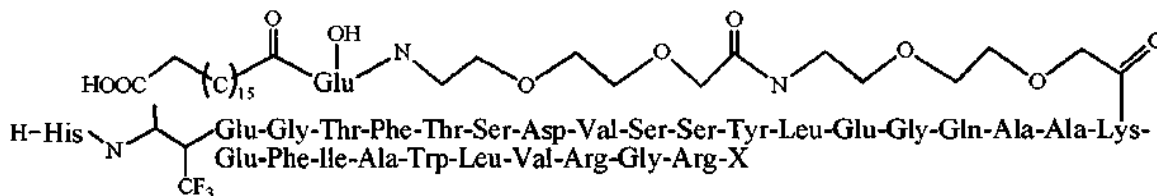
El potencial terapéutico para el GLP-1 y sus análogos se incrementa adicionalmente si uno considera su uso en pacientes con diabetes de tipo I. Un número de estudios ha demostrado la eficacia del GLP-1 natural en el tratamiento de diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI). De manera similar a los pacientes con diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI), el GLP-1 es eficaz en la reducción de la hiperglucemia en ayunas a través de sus propiedades glucagonostáticas. Los estudios adicionales han indicado que el GLP-1 también reduce la variación de la glucemia posprandial en la DMDI, lo más probable a través de un retraso en vaciado gástrico. Estas observaciones sugieren que el GLP-1 puede ser útil como tratamiento para la DMDI así como para la DMNDI.

Sin embargo, la semivida biológica de las moléculas de GLP-1 natural que están afectadas por la actividad de dipeptidil peptidasa IV (DPP IV) es bastante corta. Por ejemplo, la semivida biológica del GLP-1 (7-37)OH solo es de 3 a 5 minutos. La disminución sostenida de la concentración de glucosa en sangre solo se observa con infusión continua, como se demuestra en los estudios en los que el GLP-1 se administró por infusión intravenosa durante un periodo de 24 horas. Por lo tanto los péptidos basados en el GLP-1 de acción prolongada que son resistentes a la DPP IV pueden tener gran potencial terapéutico para el tratamiento de la diabetes mellitus.

**Breve resumen de la invención**

La presente invención proporciona análogos del péptido similar al glucagón-1 y uso de los mismos.

En primer lugar, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, solvatos de los mismos, quelatos de los mismos, complejos no covalentes de los mismos, profármacos de los mismos, o mezclas de cualquiera de los anteriores,



Fórmula I

en la que X es glicina o glicinamida.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas, comprendiendo cada una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de fórmula I y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 La presente invención proporciona adicionalmente el uso de las composiciones farmacéuticas para la preparación de un medicamento.

Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se usan en la preparación de medicamentos para su uso en el tratamiento o prevención de diabetes de tipo II, intolerancia a la glucosa, diabetes de tipo I, obesidad, hipertensión, síndrome X, dislipidemia, trastornos cognitivos, aterosclerosis, infarto de miocardio, cardiopatía coronaria, enfermedad cardiovascular, apoplejía, síndrome inflamatorio intestinal y/o dispepsia o úlceras de estómago.

10 Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se usan en la preparación de medicamentos para su uso en el retraso o prevención del empeoramiento de la diabetes de tipo II.

Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se usan en la preparación de medicamentos para su uso en la disminución de la ingesta de alimento, disminución de la apoptosis de células  $\beta$ , incremento de la función de células  $\beta$ , incremento de la masa de células  $\beta$  y/o para restablecer la sensibilidad a la glucosa de células  $\beta$ .

15 La presente invención también proporciona el uso de los compuestos de fórmula I para la preparación de medicamentos para su uso en el tratamiento o la prevención de diabetes de tipo II, intolerancia a la glucosa, diabetes de tipo I, obesidad, hipertensión, síndrome X, dislipidemia, trastornos cognitivos, aterosclerosis, infarto de miocardio, cardiopatía coronaria, enfermedad cardiovascular, apoplejía, síndrome inflamatorio intestinal, dispepsia y/o úlceras gástricas.

20 Preferentemente, los compuestos de fórmula I se usan en la preparación de medicamentos para su uso en el retraso o prevención del empeoramiento de la diabetes de tipo II.

Preferentemente, los compuestos de fórmula I se usan en la preparación de medicamentos para su uso en la disminución en la ingesta de alimento, disminución de la apoptosis de células  $\beta$ , incremento de la función de células  $\beta$ , incremento de la masa de células  $\beta$  y/o para restablecer la sensibilidad a la glucosa de células  $\beta$ .

25 La presente invención proporciona adicionalmente un procedimiento para modular los niveles de glucosa en sangre en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto de fórmula I.

La presente invención se describe con detalle a continuación y se ejemplifica mediante los modos de realización proporcionados a continuación.

30 A menos que se indique lo contrario, se entenderá que todos los números que expresan cantidades de ingredientes diferentes, condiciones de reacción, y demás, usados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones están modificados en todos los casos por el término "prácticamente" o "aproximadamente". En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar en función de la desviación estándar encontrada en sus mediciones de prueba respectivas.

35 Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por lo tanto, pueden existir como estereoisómeros, tales como isómeros de doble enlace (es decir, isómeros geométricos), enantiómeros o diastereómeros. En consecuencia, cualesquiera estructuras químicas dentro del alcance de la memoria descriptiva representadas, completamente o en parte, con una configuración relativa engloban todos los posibles enantiómeros y estereoisómeros de los compuestos ilustrados, incluyendo la forma estereoisoméricamente pura (p.ej., geoméricamente pura, enantioméricamente pura o diastereoméricamente pura) y las mezclas enantiómeras y estereoisómeras. Las mezclas enantiómeras y estereoisómeras se pueden redisolverse en los enantiómeros o estereoisómeros componentes usando técnicas de separación o técnicas de síntesis quiral bien conocidas por el experto en la técnica.

45 Los compuestos de fórmula I incluyen, pero no se limitan a, los isómeros ópticos de estos compuestos, racematos de los mismos, y otras mezclas de los mismos. En estas situaciones, los enantiómeros o diastereómeros individuales, es decir, formas ópticamente activas, se pueden obtener por síntesis asimétrica o por resolución de los racematos. La resolución de los racematos se puede lograr, por ejemplo, mediante procedimientos convencionales, tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo, una columna de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) quiral. Además, los compuestos de fórmula I incluyen las formas Z y E- (o formas cis y trans) de compuestos con dobles enlaces. Si los compuestos de fórmula I existen en varias formas tautómeras, las entidades químicas de la presente invención incluyen todas las formas tautómeras del compuesto.

55 Los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los compuestos de fórmula I y todas las formas farmacéuticamente aceptables de los mismos. Las formas farmacéuticamente aceptables de los compuestos enumerados en el presente documento incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, solvatos de los mismos, formas de cristal (incluyendo polimorfos y clatratos) de los mismos, quelatos de los mismos, complejos no

covalentes de los mismos, profármacos de los mismos, y mezclas de los mismos. En determinados modos de realización, los compuestos descritos en el presente documento están en forma de sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Como se usa de aquí en adelante, el término "compuesto" engloba no solo el compuesto en sí mismo, sino también una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un solvato del mismo, un quelato del mismo, un complejo no covalente del mismo, un profármaco del mismo, y una mezcla de cualquiera de los anteriores.

Como se advierte anteriormente, los profármacos también entran dentro del alcance de las entidades químicas, por ejemplo, los derivados de éster o amida de los compuestos de fórmula I. El término "profármacos" incluye cualesquiera compuestos que se convierten en compuestos de fórmula I cuando se administran a un paciente, p.ej., tras el procesamiento metabólico del profármaco. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, acetato, formiato, y benzoato y derivados similares de grupos funcionales (tales como grupos alcohol o amina) en los compuestos de fórmula I.

En varios lugares en la presente memoria descriptiva, se divulgan sustituyentes de compuestos de la invención en grupos o series. Se pretende específicamente que la invención incluya todas y cada una de las subcombinaciones de los miembros de dichos grupos y series. Por ejemplo, se pretende específicamente que el término "alquilo C<sub>1-3</sub>" dé a conocer individualmente metilo, etilo, y alquilo C<sub>3</sub> (incluyendo n-propilo e isopropilo).

La estructura de la fórmula I mostrada en la presente invención proporciona compuestos químicamente estables, menos susceptibles para el cuerpo de la degradación por dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) de la semivida en plasma de más de 30 horas, solucionando así la infusión intravenosa del GLP-1 con que debe continuar o la inyección subcutánea continua con el fin de efectuar una cura del defecto. Además, la presente invención proporciona una estructura como la mostrada en compuestos o los compuestos según el ingrediente activo en la preparación de fármacos usados para disminuir la concentración de glucosa en sangre, ambos con una semivida en plasma muy larga (30 horas), pero también tiene un efecto hipoglucémico significativo.

#### Breves descripciones de los dibujos

La figura 1 muestra el EM del compuesto de fórmula II.

La figura 2 muestra el EM del compuesto del ejemplo 1.

La figura 3 muestra el EM del compuesto del ejemplo 2.

#### Modos de realización de la invención

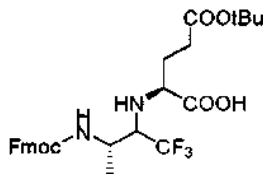
La presente invención se ejemplifica adicionalmente, sin limitarse, por los siguientes ejemplos que ilustran la preparación de los compuestos de fórmula I de la presente invención.

Los siguientes ejemplos solo describen modos de realización de la presente invención al objeto de posibilitar que la lleve a cabo un experto en el campo de la tecnología pertinente, pero no deben interpretarse como limitantes del alcance de la presente invención. En los ejemplos a continuación, algunas técnicas o procedimientos no se describen en detalle pero se entiende que son comúnmente conocidos o técnicas o procedimientos usados que se encuentran perfectamente dentro de los conocimientos de un experto en el campo al que se refiere la presente invención.

#### Ejemplo 1

##### I. Síntesis de intermedios (dímero)

La estructura de dímero se muestra a continuación:



Se puede sintetizar en el siguiente procedimiento:

##### 1. Preparación del compuesto 01·HCl

Se añadieron gota a gota 80 ml de cloruro de tionilo a 250 ml de metanol a -10 °C en el plazo de 2 horas. Después, se calentó la mezcla hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora, se añadieron 40 g de L-alanina y se agitó durante la noche. Se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante 4 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró para dar 80 g de compuesto 01·HCl en bruto.

45

## 2. Preparación del compuesto 02

Se añadieron 113 g de bromuro de bencilo a la mezcla de 40 g del compuesto 01·HCl en 350 ml de DMF. Se añadieron 150 g de carbonato de potasio anhidro a la mezcla anterior, y se continuó con agitación durante 2 horas. Se calentó la mezcla de reacción hasta 50 °C y se agitó durante 2 horas, se enfrió hasta la temperatura ambiente y se extrajo con 400 ml de acetato de etilo y 1200 ml de agua. Se lavó la capa orgánica con 150 ml de HCl 6 N, la fase acuosa se neutralizó con bicarbonato de sodio hasta pH 8 y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se secaron con sulfato de magnesio anhidro y posteriormente se concentraron para dar un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna para dar 57,6 g del compuesto 02.

## 3. Preparación del compuesto 03

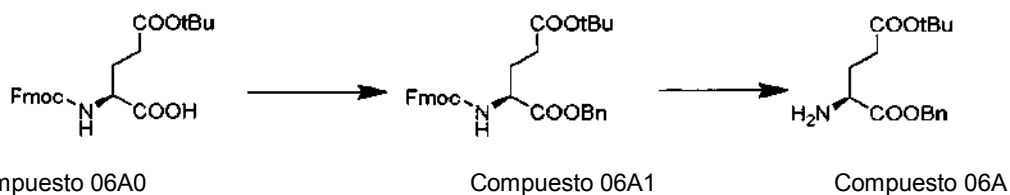
Se añadió gota a gota una solución de 57,6 g del compuesto 02 en 100 ml éter a la mezcla de 11,7 g de hidruro de litio y aluminio en 200 ml de éter dietílico en el plazo de 1 hora a 0 °C. La mezcla se calentó posteriormente a 30 °C y se hizo reaccionar durante 0,5 horas. Se añadieron gota a gota 18 g de agua a la mezcla de reacción en el plazo de 1 hora a 0 °C para desactivar la reacción y posteriormente la mezcla se agitó durante 1 hora. La precipitación se retiró por filtración y se lavó con acetato de etilo. Todo el acetato de etilo se combinó y se concentró a vacío para dar un residuo que se purificó en éter de petróleo para dar 36 g de compuesto 03 cristalino.

## 4. Preparación del compuesto 05

Se añadieron gota a gota 9,6 g de dimetilsulfóxido en 50 ml de solución de cloruro de metileno a una solución de 7,6 g de cloruro de oxalilo en 150 ml de diclorometano en un plazo de 0,5 horas a -65 °C, posteriormente se agitó la mezcla durante 0,5 horas. A esta mezcla se añadieron gota a gota a lo largo de una hora 11 g del compuesto 03 en una solución de cloruro de metileno de 100 ml, y la solución se agitó durante 1 hora. Se añadieron gota a gota 14 g de trietilamina a la solución resultante en el plazo de 1 hora y se agitó durante 2 horas más. La mezcla de reacción se calentó hasta la temperatura ambiente y posteriormente se añadieron 50 ml de agua a la mezcla de reacción. La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con 50 ml de diclorometano. Se lavaron las capas orgánicas combinadas con 100 ml de solución de bicarbonato de sodio y salmuera saturada, seguido de secado sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se retiró para obtener 11,7 g del compuesto 04. Se añadieron 2,5 ml de TBAF en solución de THF (1 mol/l) en una solución del compuesto 04 en 150 ml de THF a 0 °C, posteriormente se añadió gota a gota TMSCF<sub>3</sub> en solución de THF (9 g/50 ml) a la mezcla y se agitó durante 15 minutos. Se añadieron 35 ml de HCl concentrado en la mezcla de reacción y se agitó durante 30 minutos. Posteriormente se añadieron agua y acetato de etilo a la mezcla de reacción y se neutralizó con bicarbonato de sodio hasta pH 8. La capa orgánica se separó y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de la concentración, el residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para dar 9,0 g del compuesto 05.

## 5. Preparación del compuesto 06A

Se disolvieron 17,6 g del compuesto 06A0 (disponible comercialmente) en 200 ml de DMF, y a la solución se añadieron 24 g de bromuro de bencilo y 36 g de bicarbonato de sodio. La mezcla resultante se agitó durante la noche. Posteriormente se añadieron 1200 ml de agua y 400 ml de acetato a la mezcla. La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y posteriormente se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna para dar el compuesto 06A1. Se añadió una mezcla de 75 ml de piperidina y 350 ml de acetato de etilo al compuesto 06A1 con agitación durante 2 horas a 25 °C. Posteriormente la mezcla se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna para dar 10 g del compuesto 06A.



## 6. Preparación del compuesto 07

Se añadió una solución de hidróxido de sodio (5 g/30 ml) a 0 °C a una solución de THF de 30 ml que contenía 2 g del compuesto 05 y 0,2 g de TBAB. Se añadieron 2,5 g de cloruro de p-toluensulfonilo a la solución y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Posteriormente se añadieron agua y acetato de etilo a la mezcla. Las capas orgánicas se separaron, se secaron y se concentraron para suministrar 2,7 g del compuesto 06. Se calentó a reflujo durante la noche una solución de acetonitrilo de 20 ml que contenía 2,7 g del compuesto 06 y 3,3 g del compuesto 06A. Posteriormente el acetonitrilo se retiró por evaporación y el residuo resultante se lavó con éter de petróleo y se separó por filtración. El filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna para dar 1,8 g del compuesto 07.

**7. Preparación del compuesto 08**

Se añadieron 0,3 g de catalizador Pd(OH)<sub>2</sub>/C a una solución de metanol de 400 ml que contenía 1,8 g del compuesto 07, y la mezcla se hidrogenó durante la noche. Se eliminó por filtración el catalizador y el metanol se concentró para dar 0,9 g del compuesto 08.

**8. Preparación de dímero**

5 Se agitó una solución del compuesto 08 (0,9 g) y FmocCl (0,9 g) en dioxano (40 ml) durante la noche. Posteriormente se filtró la mezcla de reacción para recoger la precipitación y la precipitación se lavó con dioxano y éter de petróleo para dar 0,59 g de dímero.

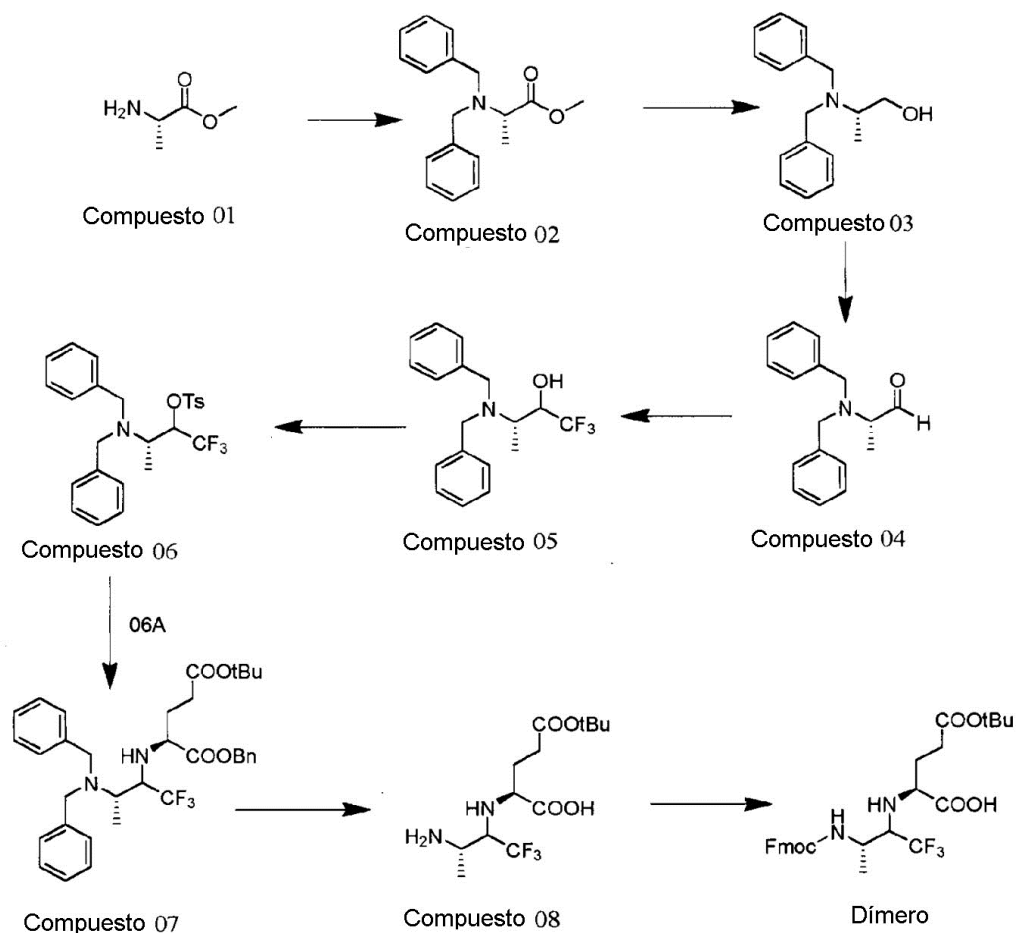
RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,04 (d, 3H), 1,38 (s, 9H), 1,50-1,91 (m, 2H), 2,21-2,30 (m, 2H), 3,06-3,08 (m, 1H), 3,30-3,37 (m, 1H), 4,26-4,38 (m, 4H), 7,32-7,46 (m, 4H), 7,72-7,76 (m, 2H), 7,90 (d, 2H), 8,04 (d, 1H).

10 RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>): 15,20, 20,46, 27,16, 30,55, 46,08, 48,88, 54,75, 55,12, 55,90, 65,66, 78,98, 119,54, 124,68, 124,79, 126,50, 126,75, 127,11, 140,21, 143,07, 143,24, 156,02, 171,37, 174,69.

RMN de <sup>19</sup>F (DMSO-d<sub>6</sub>): 70,023.

CL-EM (m/z): 551 (M+H).

La vía de síntesis de dímero se muestra como sigue:



15

**II. Síntesis de la cadena principal**

**1. Hinchamiento**

La resina de Fmoc-Gly-Wang (0,27 mmol/g, 0,2 mol) se mantuvo en DCM durante 20 minutos y posteriormente la resina se recogió por filtración.

20

**2. Desprotección de Fmoc**

La resina anterior, se añadió a una solución de 10 ml de PIPE/DMF (PIPE/DMF=1/4) y se mantuvo en la solución durante 8-10 minutos, posteriormente la mezcla se filtró para recoger la resina.

La siguiente prueba de Kaiser basada en ninhidrina (prueba KT) se realizó para detectar grupos amino libres: se lavaron 30-50 gránulos de resina con DCM 3 veces. Después de que se añadieran aproximadamente dos gotas a cada uno de los tres reactivos (A, B y C), se mantuvo la mezcla a 115 °C durante 5 minutos. La desprotección se consideró completa cuando tanto la solución como la resina se volvieron azules.

**3. Lavado**

La resina se lavó 6 veces, cada una con DCM y DMF y posteriormente se filtró.

**4. Acoplamiento**

Una elección preferente para la reacción de acoplamiento es DIC. Se realizó como sigue: una solución de DMF de 5 ml que contenía Fmoc-Arg(Pbf)-OH (0,8 mmol, 0,52 g), HOBT (0,8 mmol, 0,11 g) y DIC (0,8 mmol, 125 µl) se agitó durante 1,5 horas. Se empleó posteriormente el procedimiento para detectar un grupo amino libre a través de la prueba KT. Se tomaron 30-50 gránulos de resina y posteriormente se lavaron con DCM 3 veces. Después de que se añadieran aproximadamente dos gotas a los tres reactivos (A, B y C), se mantuvo la mezcla a 115 °C durante 5 minutos. La reacción se consideró completa cuando tanto la solución como la resina se volvieron amarillo claro o incoloras. La reacción no estaba completada cuando la solución o resina seguía siendo azul claro, y el procedimiento de detección se repitió durante 3 horas adicionales. Se empleó un reactivo de acoplamiento de tipo uronio (aminoácido/HATU/HOAt/DIEA=1/0,95-0,98/1/2) cuando la reacción todavía no estaba completada después de tres horas.

**5. Remate**

Cuando un péptido de hasta 20 aminoácidos en total y las pruebas de KT revelaron la presencia de funciones amino sin reaccionar después del reacoplamiento, fue necesario rematar estos para evitar la formación de secuencias de deleción. El remate se efectuó a través de un tratamiento corto (15 minutos a temperatura ambiente) de la resina con una solución de anhídrido acético y DIEA (1:3 en proporción molar) en la proporción resina:reactivo de 1:5, seguido de filtración para secar.

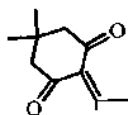
**6. Lavado**

Se lavó la resina con DCM, seguido de DMF y esta etapa de lavado se repitió 5 veces y se secó por filtración.

**7. Se repitieron las etapas 2-6 para completar la síntesis de la cadena principal.**

Al igual que para la cadena lateral en la Lys(12) de un péptido, fue necesaria la desprotección selectiva (es decir, un grupo protector en una molécula se puede retirar de forma selectiva sin afectar a otros grupos protectores). Se pudo elegir Fmoc-Lys (Dde)-OH porque fue necesario usar un grupo protector de amino que no se pudiera retirar mediante PIPE. Se siguió con el procedimiento de acoplamiento que usa diisopropilcarbodiimida carbodiimida (procedimiento DIC), como se describe anteriormente en el ejemplo I.4.

Se obtuvo un péptido de fórmula II después de que se escindiera la cadena principal con Thr(25) en el extremo C. Su peso molecular se confirmó mediante EM (cal. 2905,18, hallado 2904,74), como se muestra en la figura 1.



grupo protector Dde

Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Arg-Gly-Arg-Gly-OH

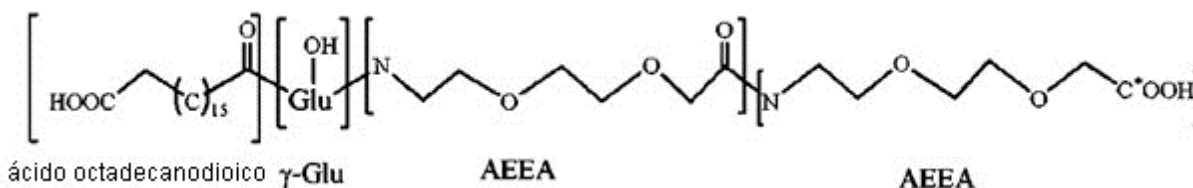
Fórmula II

Un compuesto de la presente invención tiene un aminoácido en la posición 29 desde el extremo C en la cadena principal (dímero, con su estructura mostrada anteriormente). Su grupo amino se protegió con Fmoc y su grupo carboxilo se protegió con OtBu. Se obtuvo por acoplamiento, con diisopropilcarbodiimida como el reactivo de acoplamiento. Específicamente, se añadieron el dímero (0,55 g, 1,0 mmol, 5 equiv. de resina), HOBT (0,14 g, 1 mmol), y diisopropilcarbodiimida (DIC) (160 µl, 1 mmol) en 5 ml de DMF a la resina y se prosiguió la reacción a temperatura ambiente durante 3 horas para acoplar el dímero a la cadena principal.

El acoplamiento del último aminoácido del extremo C (His) se completó acoplando Boc-His (Trt)-OH y usando diisopropilcarbodiimida (DIC) como agente de acoplamiento o un reactivo de acoplamiento de tipo uronio.

### III. Síntesis de la cadena lateral y conexión a la cadena principal

1. La cadena lateral, como se muestra en la fórmula III, es un compuesto de la presente invención. Tiene la secuencia del ácido octadecanodioico- $\gamma$ -Glu-AEEA-AEEA, en la que C\*OOH está unido a la cadena peptídica principal mostrada en la fórmula II. El grupo Dde protector (es decir, 1-(4, 4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)etilo) en Lys(12) de la cadena peptídica principal de fórmula II se retiró mediante hidrazina al 2 %. La cadena lateral se acopló a la Lys por el mismo procedimiento descrito anteriormente en II.2-6. La síntesis de la cadena lateral mostrada en la fórmula III se completó mediante el acoplamiento de Fmoc-AEEA-OH y Fmoc-Glu-OtBu y reactivos de acoplamiento de tipo uronio usados para unir el grupo  $\gamma$ -carboxilo de Glu al grupo amino de AEEA, seguido del acoplamiento final del ácido 1,18-octadecanodioico con un grupo carboxilo protegido por tBu.



Fórmula III

### IV. Escisión y purificación

#### 1. Escisión

- La resina de péptido se lavó y se secó por filtración. Su escisión se llevó a cabo usando una proporción de 1 g de resina de péptido con 10 ml de lisados. Específicamente, la resina de péptido se añadió a una solución de lisados (TFA:TA:EDT:H<sub>2</sub>O:fenol= 82,5:5:2,5:5:5) y se agitó durante 3 horas. La mezcla se diluyó con 500 ml de éter enfriado con hielo y se recogió el precipitado por centrifugación. Posteriormente se lavó el precipitado 4 veces y se secó al aire para dar el compuesto en bruto de fórmula I.

#### 2. Purificación

- El compuesto en bruto de fórmula I se disolvió en metanol/agua al 90 %. La solución se trató con ultrasonido y posteriormente se filtró a través de una membrana de ultrafiltración de 0,45  $\mu$ m. El filtrado se purificó por cromatografía preparativa para dar un compuesto puro de fórmula I. El análisis de EM mostró el peso molecular correcto (cal. 4152,1, hallado 4152,5), como se muestra en la figura 2.

#### Ejemplo 2

- La síntesis de la cadena peptídica principal de fórmula II se realizó mediante el uso de la resina de Rink Amide en lugar de la resina Fmoc-Gly-Wang. Las demás condiciones fueron las mismas que las descritas en el ejemplo 1.

A menos que se especifique de otro modo, la temperatura a la que se hace referencia en el ejemplo 1 y ejemplo 2 fue la temperatura ambiente. Los reactivos A, B y C fueron fenol al 80 % en solución de etanol, piridina redestilada, y una solución de ninhidrina/etanol (5 g en 100 ml).

#### Ejemplo 3-Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG)

##### 1. Grupos

- 90 ratones ICR (Institute of Cancer Research), todos machos, se dividieron en tres lotes por peso corporal, teniendo cada lote 30 ratones. Después de ayuno y durante la noche, cada lote se dividió en dos grupos en función del nivel de azúcar en sangre: el grupo de vehículo y el grupo que recibió el compuesto del ejemplo 1 ("grupo de compuesto"). El grupo de vehículo fue tratado solamente con solución salina, y el grupo de compuesto se trató con el compuesto del ejemplo 1 disuelto en solución salina.

##### 2. Experimentos

- Lote 1:** Los ratones se dividieron en dos grupos en función de su nivel de azúcar en sangre después de ayuno durante la noche. En el día 1, se les administró con solución salina o el compuesto en solución salina (0,3 mg/kg), mediante inyección subcutánea. 2 horas después de la administración, los ratones se alimentaron por sonda gástrica con una dosis de glucosa (2 g/kg) y se tomaron muestras de sangre de la punta de la cola 30 minutos y 60 minutos después de la administración de glucosa. Se midieron sus niveles de glucosa en sangre. En el día 4 (72 horas después de la administración del compuesto de prueba), tras un ayuno durante la noche, ambos grupos de ratones se alimentaron por sonda gástrica con una dosis de glucosa (2 g/kg). Se tomaron muestras de sangre 30 minutos después de la administración de glucosa y se midió el nivel de glucosa en sangre.



**Lote 2:** Los ratones se dividieron en grupos en función de su nivel de azúcar en sangre después del ayuno durante la noche. En el día 1, se administró a los ratones el compuesto de prueba mediante inyección subcutánea en la dosificación de 0,3 mg/kg. En el día 2, después de ayunar durante 8 horas, los ratones se alimentaron por sonda gástrica con una dosis de glucosa (2 g/kg) y se tomaron sus muestras de sangre 30 minutos después de la administración de glucosa y se midió el nivel de glucosa en sangre. Se llevó a cabo otra alimentación por sonda gástrica en el día 5 (90 horas después de la administración del compuesto de prueba) tras un ayuno durante la noche y se midieron los niveles de glucosa en sangre 30 minutos después de la administración de glucosa.

**Lote 3:** Los ratones se dividieron en grupos en función de su nivel de azúcar en sangre después del ayuno durante la noche. En el día 1, se administró a los ratones el compuesto de prueba mediante inyección subcutánea en la dosificación de 0,3 mg/kg. En el día 3, después de ayuno durante la noche, los ratones se alimentaron por sonda gástrica con una dosis de glucosa (2 g/kg, 42 horas después de la administración del compuesto de prueba) y se tomaron sus muestras de sangre 30 minutos después de la administración de glucosa y se midió el nivel de glucosa en sangre.

La medición del nivel de glucosa en sangre se realizó con el sistema de detección de glucosa en sangre integrado ACCU-CHEK® de Roche.

### 3. Resultados

(1) 2 horas después de la administración del compuesto

Grupo	Dosis (mg/kg)	Glucosa en sangre (mM)			Glucosa en sangre ( % frente a FBG)		
		FBG	30 min	60 min	FBG	30 min	60 min
Vehículo		2,88±0,48	8,73±2,27	7,12±2,93	100,0	311,9±100,3	255,0±111,6
Compuesto	0,3	2,93±0,64	4,87±2,33	3,40±1,31	100,0	159,7±44,6	115,5±31,5

(2) 25 horas después de la administración del compuesto

Grupo	Dosis (mg/kg)	Glucosa en sangre (mM)			Glucosa en sangre ( % frente a FBG)		
		FBG	0 min	30 min	FBG	0 min	30 min
Vehículo		3,03±0,65	7,23±0,69	10,73±1,83	100,0	247,3±50,7	373,0±119,5
Compuesto	0,3	2,92±0,50	4,25±0,30	7,12±1,14	100,0	149,2±25,8	250,6±59,3

(3) 42 horas después de la administración del compuesto

Grupo	Dosis (mg/kg)	Glucosa en sangre (mM)			
		FBG	PBG	0 min	30 min
Vehículo		3,08±0,63	9,18±1,68	4,17±0,94	9,87±2,53
Compuesto	0,3	2,92±0,35	7,57±0,38	3,67±0,80	5,53±1,27
Grupo	Dosis (mg/kg)	Glucosa en sangre ( % frente a FBG)			
		FBG	PBG	0 min	30 min
Vehículo		100,0	308,4±85,0	138,0±35,6	323,1±85,2
Compuesto	0,3	100,0	262,0±26,4	125,9±22,0	193,2±53,3

PBG: Glucosa en sangre posprandial medida antes del ayuno.

(4) 72 horas después de la administración del compuesto

Grupo	Dosis mg/kg	Glucosa en sangre (mM)			
		FBG	PBG	0 min	30 min
Vehículo		2,88±0,48	8,47±0,88	4,78±1,26	9,60±1,44
Compuesto	0,3	2,93±0,64	7,33±0,52	3,17±0,63	6,82±2,71
Grupo	Dosis mg/kg	Glucosa en sangre ( % frente a FBG)			
		FBG	PBG	0 min	30 min
Vehículo		100,0	299,0±47,6	168,4±46,6	341,7±79,5
Compuesto	0,3	100,0	258,6±51,3	111,0±29,8	234,0±91,2

(5) 90 horas después de la administración del compuesto

Grupo	Dosis mg/kg	Glucosa en sangre (mM)			
		FBG	PBG	0 °C/min	30 °C/min
Vehículo		3,03±0,65	9,15±1,04	3,10±0,09	13,43±1,53
Compuesto	0,3	2,92±0,50	7,80±0,46	3,55±0,47	8,78±0,88
Grupo	Dosis (mg/kg)	Glucosa en sangre (% frente a FBG)			
		FBG	PBG	0 °C/min	30 °C/min
Vehículo		100,0	315,5±79,1	105,5±19,2	462,3±120,2
Compuesto	0,3	100,0	276,6±65,5	123,7±19,8	307,8±54,8

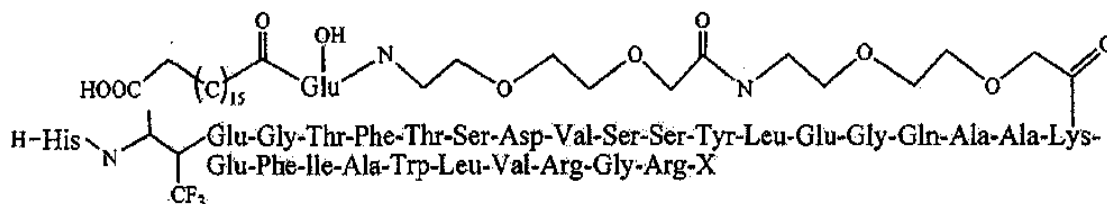
5 Los datos anteriores indican que el compuesto de prueba tiene una capacidad significativa para reducir el nivel de glucosa en sangre y pudo hacerlo durante 90 horas después de su administración.

Además, los compuestos de la presente invención tienen una semivida en plasma de más de 30 horas, mientras que la semivida en plasma del GLP-1 es de 1-2 minutos.

10 Se entiende que los modos de realización descritos anteriormente son simplemente ejemplos ilustrativos de la presente invención y no constituyen el alcance de la presente invención que está definida por las reivindicaciones adjuntas. Las diversas modificaciones o cambios en la invención efectuados por un experto en la técnica, sin alejarse de la esencia de la presente invención, han de ser incluidas en su totalidad dentro del alcance de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I,



Fórmula I

- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un solvato del mismo, un quelato del mismo, un complejo no covalente del mismo, un profármaco del mismo, o una mezcla de cualesquiera de los anteriores;  
 en la que X es glicina o glicinamida.
2. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de la reivindicación 1 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, para su uso en el tratamiento de la diabetes de tipo II, intolerancia a la glucosa, diabetes de tipo I, obesidad, hipertensión, síndrome X, dislipidemia, trastornos cognitivos, aterosclerosis, infarto de miocardio, cardiopatía coronaria, enfermedad cardiovascular, apoplejía, síndrome inflamatorio intestinal y/o dispepsia o úlceras de estómago.
- 15 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, para su uso en el retraso y/o prevención del empeoramiento de la diabetes de tipo II.
5. El compuesto de la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de la diabetes de tipo II, intolerancia a la glucosa, diabetes de tipo I, obesidad, hipertensión, síndrome X, dislipidemia, trastornos cognitivos, aterosclerosis, infarto de miocardio, cardiopatía coronaria, enfermedad cardiovascular, apoplejía, síndrome inflamatorio intestinal, dispepsia y/o úlceras gástricas.
- 20 6. El compuesto de la reivindicación 1, para su uso en el retraso y/o prevención del empeoramiento de la diabetes de tipo II.
7. El compuesto de la reivindicación 1, para su uso en la modulación del nivel de glucosa en sangre en un sujeto.

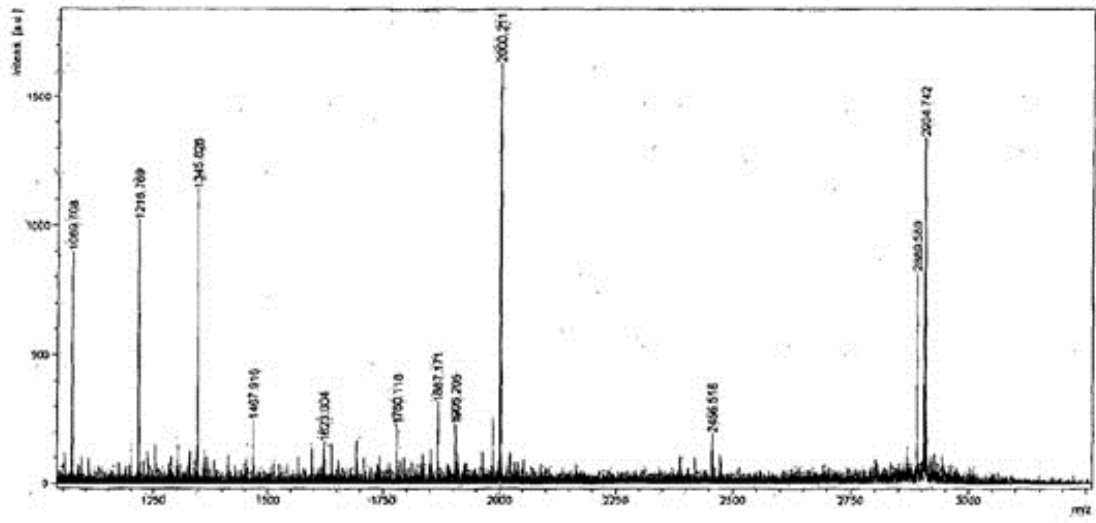


Fig. 1

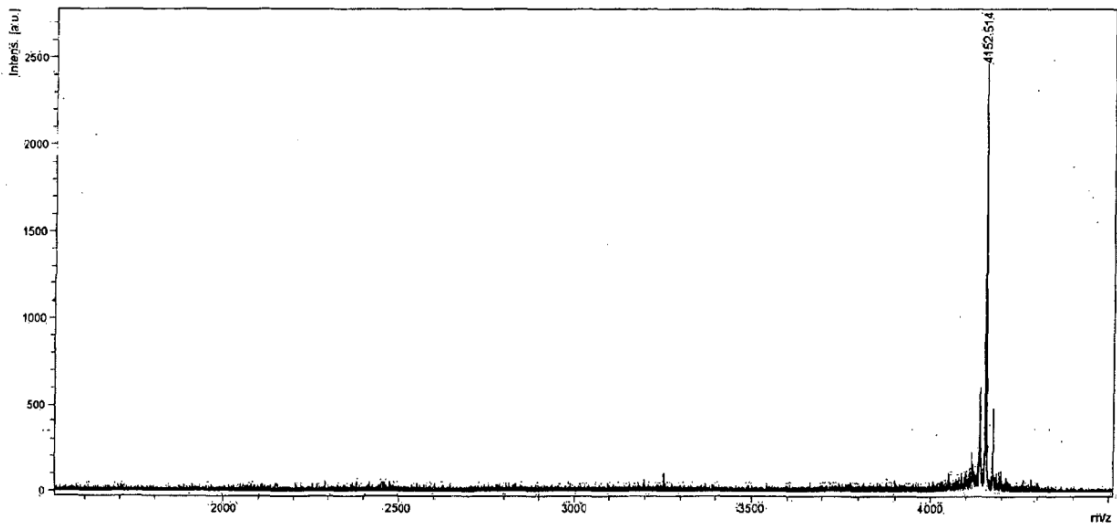


Fig. 2

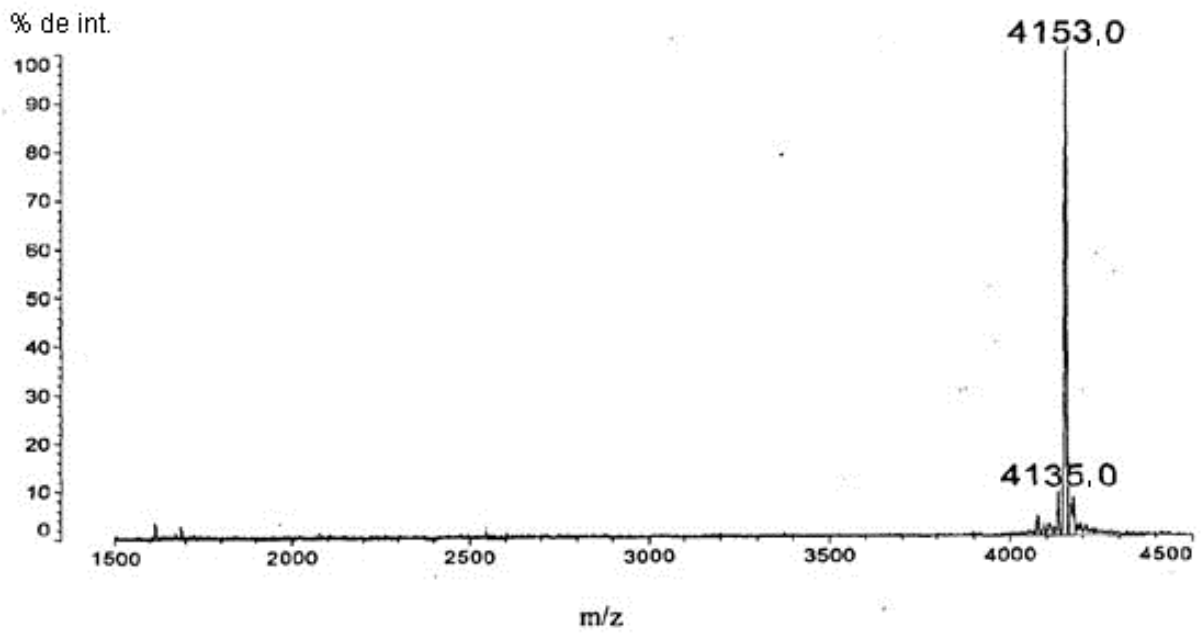


Fig.3