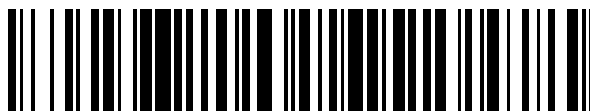


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 260**

51 Int. Cl.:

C07K 14/65 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2010 E 10773526 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.12.2015 EP 2456788**

54 Título: **Análogos del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) que tienen una sustitución de aminoácidos en la posición 59**

30 Prioridad:

22.07.2009 US 271549 P

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

03.03.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**DONG, ZHENG XIN;
PRAIRIE, NICHOLAS C.;
UFRET, MARIA L.;
ZHANG, JUNDONG;
ROTHMAN, DEBORAH y
COMSTOCK, JEANNE MARY**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 562 260 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Análogos del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) que tienen una sustitución de aminoácidos en la posición 59

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a nuevos análogos del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), a composiciones farmacéuticas que contienen dichos análogos y al uso de dichos análogos para el tratamiento de afecciones mediadas por el receptor de IGF-1, tales como estatura baja, terapia de la diabetes, tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y reparación del cartílago. Más particularmente, la presente invención se refiere a nuevos análogos de IGF-1 que tienen una sustitución de aminoácidos en la posición 59, *p. ej.*, (Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH, y otra(s) sustitución(es) tal y como se definen en esta memoria.

Técnica anterior

- 15 IGF-1 es una hormona polipeptídica de 70 aminoácidos que tiene actividades biológicas similares a la insulina y de crecimiento mitogénico. Esta hormona mejora el crecimiento de las células en una variedad de tejidos, incluyendo el sistema musculoesquelético, el hígado, los riñones, el intestino, los tejidos del sistema nervioso, el corazón y los pulmones.

El IGF-1 de tipo silvestre tiene la siguiente secuencia de aminoácidos con tres puentes disulfuro intracatenarios en donde las cadenas laterales de las parejas de residuos A⁶ y A⁴⁸, A⁴⁷ y A⁵², y A¹⁸ y A⁶¹, forman cada una un enlace disulfuro (SEQ ID NO:50):

```

Gly-Pro-Glu-Thr-Leu-Cys-Gly-Ala-Glu-Leu-Val-Asp-Ala-Leu-Gln-Phe-Val-Cys-
 1           5           10          15
Gly-Asp-Arg-Gly-Phe-Tyr-Phe-Asn-Lys-Pro-Thr-Gly-Tyr-Gly-Ser-Ser-Ser-Arg-
 20          25          30          35
Arg-Ala-Pro-Gln-Thr-Gly-Ile-Val-Asp-Glu-Cys-Cys-Phe-Arg-Ser-Cys-Asp-Leu-
 40          45          50
Arg-Arg-Leu-Glu-Met-Tyr-Cys-Ala-Pro-Leu-Lys-Pro-Ala-Lys-Ser-Ala
 55          60          65          70

```

- 20 Aunque IGF-1 está presente en una amplia variedad de tejidos corporales, se encuentra normalmente en una forma inactiva en la que está unido a una proteína que se une a IGF (IGFBP). Se conocen seis IGFBPs relacionadas y han sido designadas IGFBP1 - IGFBP6. Véase, *p. ej.*, Holly y Martin, "Insulin-like Growth Factor Binding Proteins: A Review of Methodological Aspects of Their Purification, Analysis and Regulation", Growth Regul., 4 (Supl. 1):20-30 (1994). Las IGFBPs tienen un papel importante en la regulación de IGF-1 al ejercer efectos inhibidores y/o
- 25 estimulantes sobre la acción de IGF-1. Por ejemplo, aproximadamente el 90% del IGF-1 circulante está presente en un complejo trimolecular que contiene IGFBP-3 y la subunidad ácido lábil. El IGF-1 dentro de tales complejos es incapaz de unirse a los receptores de superficie, y por lo tanto es biológicamente inactivo. El IGF-1 presente dentro del complejo trimolecular también tiene una semivida sustancialmente más larga que el IGF-1 que no forma complejo.
- 30 La alteración de la acción de IGF-1 puede contribuir a una serie de trastornos fisiológicos que incluyen trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de la motoneurona (es decir, esclerosis lateral amiotrófica (ELA)), distrofia muscular y esclerosis múltiple, trastornos del cartílago, tales como osteoartritis, enfermedades óseas tales como osteoporosis, trastornos inflamatorios tales como artritis reumatoide, lesiones isquémicas en órganos tales como el corazón, el cerebro o el hígado, y demás.
- 35 Como es bien conocido por los expertos en la técnica, los usos conocidos y potenciales de IGF-1 son variados y muy numerosos. Por ejemplo, una serie de estudios informan sobre el uso de IGF-1 como un agente terapéutico potencial para el tratamiento de afecciones neurodegenerativas. Véase, *p. ej.*, Kanje et al., Brain Res., 486:396-398 (1989); Hantai et al., J. Neurol. Sci., 129:122-126 (1995); Contreras et al., Pharmac. Exp. Therap., 274:1443-1499 (1995); Di Giulio et al., Society for Neuroscience, 22:1960 (1996); Di Giulio et al., Society for Neuroscience, 23:894 (1997); Hsu et al., Biochem. Mol. Med., 60(2):142-148 (1997); Gorio et al., Neuroscience, 82:1029-1037 (1998). La terapia con IGF-1 se ha indicado en numerosas afecciones neurológicas, incluyendo ELA, derrame cerebral, epilepsia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, lesión traumática aguda y otros trastornos asociados con traumatismo, envejecimiento, enfermedad o lesión. Véanse, *p. ej.*, los documentos de patente de EE.UU. n° 5.093.137; 5.652.214; 5.703.045; las Publicaciones Internacionales n° WO 90/1483 y WO 93/02695.
- 40 El uso de una terapia con IGF-1 para una variedad de otras afecciones se ha descrito en una serie de publicaciones. Véanse, *p. ej.*, Schalch et al., "Modern Concepts of Insulin-Like Growth Factors," ed. Spencer (Elsevier, New York), págs. 705-714 (1991); Clemmons y Underwood, J. Clin. Endocrinol. Metab., 79(1):4-6 (1994); y Langford et al., Eur. J. Clin. Invest., 23(9):503-516 (1993) (en referencia, *p. ej.*, a estados resistentes a la insulina y diabetes); y O'Shea et al., Am. J. Physiol., 264:F917-F922 (1993) (en referencia, *p. ej.*, a una función renal reducida). También véanse los

documentos de patente de EE.UU. nº 7.258.864 (en referencia a la estatura baja); patente de EE.UU. nº 5.110.604 y 5.427.778 (en referencia, *p. ej.*, a la curación de heridas); patente de EE.UU. nº 5.126.324 (en referencia, *p. ej.*, a trastornos cardiacos y a retardo del crecimiento); patente de EE.UU. nº 5.368.858 (en referencia, *p. ej.*, a defectos o lesiones en el cartílago); patentes de EE.UU. nº 5.543.441 y 5.550.188 (en referencia, *p. ej.*, al aumento de tejidos);
 5 patente de EE.UU. nº 5.686.425 (en referencia, *p. ej.*, al tejido de cicatrización, la disfunción muscular localizada y la incontinencia urinaria); y patente de EE.UU. nº 5.656.598 (en referencia, *p. ej.*, al crecimiento óseo). También véanse los documentos de Publicación Internacional nº WO 91/12018 (en referencia, *p. ej.*, a trastornos intestinales); WO 92/09301 y WO 92/14480 (en referencia a *p. ej.*, la curación de heridas); WO 93/08828 (en referencia, *p. ej.*, al
 10 daño neuronal asociado con isquemia, hipoxia o la neurodegeneración); WO 94/16722 (en referencia, *p. ej.*, a la resistencia a la insulina); WO 96/02565A1 (en referencia a, *p. ej.*, el complejo IGF/IGFBP para favorecer la formación del hueso y para la regulación de la remodelación ósea); Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2003/0100505 (en referencia, *p. ej.*, a la osteoporosis); y Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2005/0043240 (en referencia a la obesidad).

A pesar de que la terapia con IGF-1 ha sido utilizada para una serie de indicaciones fisiológicas, los resultados han sido a veces impredecibles. Efectos beneficiosos a corto plazo a veces no persisten (véase, *p. ej.*, Miller et al.,
 15 Kidney International, 46:201-207, (1994)) y se pueden producir efectos secundarios no deseados, en particular por la administración de dosis elevadas y/o la administración a largo plazo (véase, *p. ej.*, Jabri et al., Diabetes, 43:369-374 (1994); Wilton, Acta Paediatr., 393:137-141 (1992)). Además, se ha descrito que niveles de IGF-1 elevados aumentan el riesgo de cáncer de próstata (Chan et al., Science, 278:563-566 (1998)).

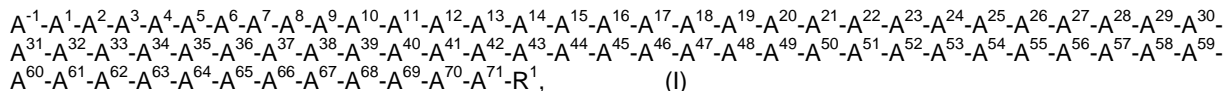
Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de mejores vías para para tratar las afecciones que responden a IGF-1 y/u otras proteínas que se unen a proteínas que se unen al factor de crecimiento similar a la insulina. La presente invención satisface estas necesidades y proporciona además otras ventajas relacionadas.

Compendio de la invención

Como han descubierto los inventores de la presente invención, mediante la sustitución del residuo de metionina en la posición 59 del IGF-1 de tipo silvestre que es químicamente inestable y que se puede oxidar fácilmente con otro aminoácido según se describe en esta memoria, *p. ej.*, (Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH, los análogos resultantes de IGF-1 son químicamente más estables y, por ello son menos susceptibles de una oxidación durante la producción, la purificación, el almacenamiento, etc.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un análogo de IGF-1 de fórmula (I),

30 H-



en donde:

35 A⁵⁹ es Asn;

A¹ es Met, Ser o eliminado;

A¹ es Gly o eliminado;

A² es Pro, Lys o eliminado;

A³ es Glu o eliminado;

40 A⁴ es Thr;

A⁵ es Leu;

A⁶ es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;

A⁷ es Gly;

A⁸ es Ala;

45 A⁹ es Glu;

A¹⁰ es Leu;

A¹¹ es Val;

A¹² es Asp;

ES 2 562 260 T3

- A¹³ es Ala;
A¹⁴ es Leu;
A¹⁵ es Gln;
A¹⁶ es Phe;
5 A¹⁷ es Val;
A¹⁸ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
A¹⁹ es Gly;
A²⁰ es Asp;
A²¹ es Arg;
10 A²² es Gly;
A²³ es Phe;
A²⁴ es Tyr;
A²⁵ es Phe;
A²⁶ es Asn;
15 A²⁷ es Lys, Arg o Pro;
A²⁸ es Pro o Lys;
A²⁹ es Thr;
A³⁰ es Gly;
A³¹ es Tyr;
20 A³² es Gly;
A³³ es Ser;
A³⁴ es Ser;
A³⁵ es Ser;
A³⁶ es Arg;
25 A³⁷ es Arg;
A³⁸ es Ala;
A³⁹ es Pro;
A⁴⁰ es Gin;
A⁴¹ es Thr;
30 A⁴² es Gly;
A⁴³ es Ile;
A⁴⁴ es Val;
A⁴⁵ es Asp;
A⁴⁶ es Glu;
35 A⁴⁷ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
A⁴⁸ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
A⁴⁹ es Phe, Arg, Leu o Thr;

- A⁵⁰ es Arg o Ser;
- A⁵¹ es Ser, Aib, Arg o Thr;
- A⁵² es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
- A⁵³ es Asp, Arg o Ser;
- 5 A⁵⁴ es Leu o A6c;
- A⁵⁵ es Arg o Tyr;
- A⁵⁶ es Arg o Gin;
- A⁵⁷ es Leu;
- A⁵⁸ es Glu o Arg;
- 10 A⁶⁰ es Tyr o Phe;
- A⁶¹ es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
- A⁶² es Ala o Asn;
- A⁶³ es Pro, D-Pro, Thr o eliminado;
- A⁶⁴ es Leu, D-Leu, des-Leu o eliminado;
- 15 A⁶⁵ es Lys, D-Lys, des-Lys, Arg o eliminado;
- A⁶⁶ es Pro, D-Pro o eliminado;
- A⁶⁷ es Ala, D-Ala, Aib o eliminado;
- A⁶⁸ es Lys, D-Lys, Arg o eliminado;
- A⁶⁹ es Ser, D-Ser, Aib, Thr o eliminado;
- 20 A⁷⁰ es Ala, D-Ala, Glu o eliminado; y
- A⁷¹ es eliminado, Asp, Glu, Lys o Ser; y
- R¹ es OH o NH₂;

siempre que las cadenas laterales de las parejas de residuos A⁶ y A⁴⁸, A⁴⁷ y A⁵², y A¹⁸ y A⁶¹, formen cada una un enlace disulfuro;

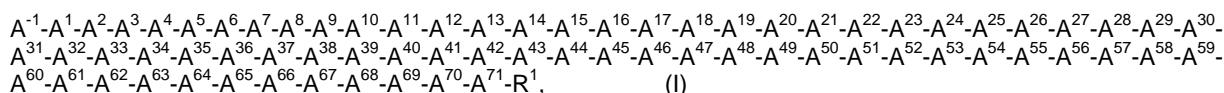
- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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

- 30 También se proporciona un análogo de la invención o una composición farmacéutica de la invención para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades mediadas por la unión al receptor de IGF-1, comprendiendo dicho tratamiento la etapa de administrar a un sujeto que lo requiera una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho análogo o composición farmacéutica. La afección o la enfermedad se pueden seleccionar a partir del grupo que consiste en estatura baja, obesidad, pérdida de peso, caquexia, anorexia, trastornos neurodegenerativos, afecciones ligadas a la fibrosis, trastornos del cartilago, enfermedades óseas, trastornos inflamatorios, trastornos intestinales, resistencia a la insulina, diabetes, cetoacidosis diabética, síndrome de Rabson-Mendenhall, retinopatía, acromegalia,
- 35 hiperplasia fibromuscular y trastornos cardíacos. El sujeto que requiere un tratamiento de la estatura baja puede ser un sujeto pediátrico humano que tiene una carencia del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGFD), en donde dicha administración es eficaz para tratar la IGFD en el sujeto pediátrico humano.

También se describen en el presente documento variantes peptídicas (es decir, análogos) de IGF-1 de la fórmula siguiente (I),

- 40 H-



en donde:

- A⁻¹ es Met, Ser o eliminado;
- A¹ es Gly, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu o eliminado;
- A² es Pro, Ala, Arg, Asp, Gin, Glu, Lys o eliminado;
- 5 A³ es Glu, Ala, Asp, Gln o eliminado;
- A⁴ es Thr, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Ser;
- A⁵ es Leu, Acc, Ala, Ile o Val;
- A⁶ es Cys, D-Cys, hCys, D-hCys, β-Me-Cys, D-β-Me-Cys, N-Me-Cys, D-N-Me-Cys, Ala, Pen o D-Pen;
- A⁷ es Gly, Ala, Asn, Asp, Gin o Glu;
- 10 A⁸ es Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu o Lys;
- A⁹ es Glu, Ala, Asp o Gln;
- A¹⁰ es Leu, Acc, Ala, Ile o Val;
- A¹¹ es Val, Ala, Ile o Leu;
- A¹² es Asp, Ala, Arg, Asn, Gin, Glu o Lys;
- 15 A¹³ es Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Ile, Leu o Val;
- A¹⁴ es Leu, Acc, Ala, Ile o Val;
- A¹⁵ es Gln, Ala, Asn, Asp o Glu;
- A¹⁶ es Phe, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Trp o Tyr;
- A¹⁷ es Val, Ala, Ile o Leu;
- 20 A¹⁸ es Cys, D-Cys, hCys, D-hCys, β-Me-Cys, D-β-Me-Cys, N-Me-Cys, D-N-Me-Cys, Ala, Pen o D-Pen;
- A¹⁹ es Gly, Ala, Asn, Asp, Gln o Glu;
- A²⁰ es Asp, Ala, Asn, Gln o Glu;
- A²¹ es Arg, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Lys;
- A²² es Gly, Ala, Asn, Asp, Gln o Glu;
- 25 A²³ es Phe, Ala, Trp o Tyr;
- A²⁴ es Tyr, Ala, Phe o Trp;
- A²⁵ es Phe, Ala, Trp o Tyr;
- A²⁶ es Asn, Ala, Asp, Gin, Glu, Ser o Thr;
- A²⁷ es Lys, Ala, Arg, Asn, Asp, Gin, Glu o Pro;
- 30 A²⁸ es Pro, Ala, Arg o Lys;
- A²⁹ es Thr, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Ser;
- A³⁰ es Gly, Ala, Asn, Asp, Gin o Glu;
- A³¹ es Tyr, Ala, Phe o Trp;
- A³² es Gly, Ala, Asn, Asp, Gin o Glu;
- 35 A³³ es Ser, Ala, Thr o Val;
- A³⁴ es Ser, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Thr;
- A³⁵ es Ser, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Thr;

ES 2 562 260 T3

- A³⁶ es Arg, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Lys;
- A³⁷ es Arg, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Lys;
- A³⁸ es Ala, Asn, Asp, Gin o Glu;
- A³⁹ es Pro, Ala, Arg o Glu;
- 5 A⁴⁰ es Gin, Ala, Asn, Asp o Glu;
- A⁴¹ es Thr, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu o Ser;
- A⁴² es Gly, Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu o Lys;
- A⁴³ es Ile, Ala, Arg, Asn, Asp, Gin, Glu o Lys;
- A⁴⁴ es Val, Ala, Arg, Asn, Asp, Gin, Glu, Ile, Leu o Lys;
- 10 A⁴⁵ es Asp, Ala, Arg, Asn, Gin, Glu o Lys;
- A⁴⁶ es Glu, Ala, Arg, Asn, Asp, Gin o Lys;
- A⁴⁷ es Cys, D-Cys, hCys, D-hCys, β -Me-Cys, D- β -Me-Cys, N-Me-Cys, D-N-Me-Cys, Ala, Pen o D-Pen;
- A⁴⁸ es Cys, D-Cys, hCys, D-hCys, β -Me-Cys, D- β -Me-Cys, N-Me-Cys, D-N-Me-Cys, Ala, Pen o D-Pen;
- A⁴⁹ es Phe, Ala, Arg, Ile, Leu, Lys, Ser, Thr, Trp, Tyr o Val;
- 15 A⁵⁰ es Arg, Ala, Lys, Ser o Thr;
- A⁵¹ es Ser, Aib, Ala, Arg, Lys o Thr;
- A⁵² es Cys, D-Cys, hCys, D-hCys, β -Me-Cys, D- β -Me-Cys, N-Me-Cys, D-N-Me-Cys, Ala, Pen o D-Pen;
- A⁵³ es Asp, Ala, Arg, Asn, Gin, Glu, Lys, Ser o Thr;
- A⁵⁴ es Leu, Acc, Ala, Ile o Val;
- 20 A⁵⁵ es Arg, Ala, Ile, Leu, Lys, Phe, Trp, Tyr o Val;
- A⁵⁶ es Arg, Ala, Asn, Asp, Gin, Glu o Lys;
- A⁵⁷ es Leu, Acc, Ala, Ile o Val;
- A⁵⁸ es Glu, Acc, Ala, Arg, Asn, Asp, Gin o Lys;
- A⁵⁹ es Acc, Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Ile, Leu, Lys, Nie, Ser, D-Ser, Thr, Trp, Tyr o Val;
- 25 A⁶⁰ es Tyr, Ala, Phe o Trp;
- A⁶¹ es Cys, D-Cys, hCys, D-hCys, β -Me-Cys, D- β -Me-Cys, N-Me-Cys, D-N-Me-Cys, Ala, Pen o D-Pen;
- A⁶² es Ala, Asn, Asp, Gin, Glu, Ile, Leu o Val;
- A⁶³ es Pro, D-Pro, Ala; Ser, Thr o eliminado;
- A⁶⁴ es Leu, D-Leu, des-Leu, Ala, Ile, Val o eliminado;
- 30 A⁶⁵ es Lys, D-Lys, des-Lys, Ala, Arg, Ile, Leu, Val o eliminado;
- A⁶⁶ es Pro, D-Pro, Ala o eliminado;
- A⁶⁷ es Ala, D-Ala, Aib o eliminado;
- A⁶⁸ es Lys, D-Lys, Ala, Arg, Ile, Leu, Val o eliminado;
- A⁶⁹ es Ser, D-Ser, Aib, Ala, Thr o eliminado;
- 35 A⁷⁰ es Ala, D-Ala, Asn, Asp, Gln, Glu o eliminado;
- A⁷¹ es Asn, Ala, Asp, Gin, Glu, Lys, Ser, Thr o eliminado; y
- R¹ es OH o NH₂;

siempre que las cadenas laterales de las parejas de residuos A⁶ y A⁴⁸, A⁴⁷ y A⁵², y A¹⁸ y A⁶¹, formen cada una un enlace disulfuro; y

con la condición adicional de que cuando A⁵⁹ es o bien Leu, Ile, Nle, Thr o Val, entonces el análogo contiene al menos una sustitución o una adición de aminoácidos adicional tal y como se define en esta memoria.

5 En un caso, en la fórmula (I) del párrafo inmediatamente anterior, las sustituciones y adiciones de aminoácidos se pueden definir del modo siguiente:

A⁻¹ es Met, Ser o eliminado;

A¹ es Gly o eliminado;

A² es Pro, Lys o eliminado;

10 A³ es Glu o eliminado;

A⁴ es Thr;

A⁵ es Leu;

A⁶ es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;

A⁷ es Gly;

15 A⁸ es Ala;

A⁹ es Glu;

A¹⁰ es Leu;

A¹¹ es Val;

A¹² es Asp;

20 A¹³ es Ala;

A¹⁴ es Leu;

A¹⁵ es Gln;

A¹⁶ es Phe;

A¹⁷ es Val;

25 A¹⁸ es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;

A¹⁹ es Gly;

A²⁰ es Asp;

A²¹ es Arg;

A²² es Gly;

30 A²³ es Phe;

A²⁴ es Tyr;

A²⁵ es Phe;

A²⁶ es Asn;

A²⁷ es Lys, Arg o Pro;

35 A²⁸ es Pro o Lys;

A²⁹ es Thr;

A³⁰ es Gly;

A³¹ es Tyr;

	A ³² es Gly;
	A ³³ es Ser;
	A ³⁴ es Ser;
	A ³⁵ es Ser;
5	A ³⁶ es Arg;
	A ³⁷ es Arg;
	A ³⁸ es Ala;
	A ³⁹ es Pro;
	A ⁴⁰ es Gin;
10	A ⁴¹ es Thr;
	A ⁴² es Gly;
	A ⁴³ es Ile;
	A ⁴⁴ es Val;
	A ⁴⁵ es Asp;
15	A ⁴⁶ es Glu;
	A ⁴⁷ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
	A ⁴³ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
	A ⁴⁹ es Phe, Arg, Leu o Thr;
	A ⁵⁰ es Arg o Ser;
20	A ⁵¹ es Ser, Aib, Arg o Thr;
	A ⁵² es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
	A ⁵³ es Asp, Arg o Ser;
	A ⁵⁴ es Leu o A6c;
	A ⁵⁵ es Arg o Tyr;
25	A ⁵⁶ es Arg o Gln;
	A ⁵⁷ es Leu;
	A ⁵⁸ es Glu o Arg;
	A ⁵⁹ es A6c, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Ile, Leu, Nle, Ser, D-Ser, Trp o Tyr;
	A ⁶⁰ es Tyr o Phe;
30	A ⁶¹ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
	A ⁶² es Ala o Asn;
	A ⁶³ es Pro, D-Pro, Thr o eliminado;
	A ⁶⁴ es Leu, D-Leu, des-Leu o eliminado;
	A ⁶⁵ es Lys, D-Lys, des-Lys, Arg o eliminado;
35	A ⁶⁶ es Pro, D-Pro o eliminado;
	A ⁶⁷ es Ala, D-Ala, Aib o eliminado;
	A ⁶⁸ es Lys, D-Lys, Arg o eliminado;

A⁶⁹ es Ser, D-Ser, Aib, Thr o eliminado;

A⁷⁰ es Ala, D-Ala, Glu o eliminado; y

A⁷¹ es Asp, Glu, Lys, Ser o eliminado.

5 Un subconjunto de los compuestos incluidos en la fórmula (I), y descritos en el presente documento, abarca compuestos en los que A⁵⁹ es Leu, en donde dichos compuestos contienen al menos una sustitución o una adición de aminoácidos adicional, seleccionada a partir del grupo que consiste en Arg²⁷, Arg⁶⁵, Arg⁶⁸, Leu⁴⁹, β-Me-Cys⁴⁷, β-Me-Cys⁵², Thr⁵¹, Thr⁶⁹, Asp⁷¹, Glu⁷¹, Lys⁷¹ y Ser⁷¹.

10 Otro subconjunto de los compuestos incluidos en la fórmula (I), y descritos en el presente documento, abarca compuestos en los que A⁵⁹ es Nle, en donde dichos compuestos contienen al menos una sustitución de aminoácidos adicional, seleccionada a partir del grupo que consiste en Aib⁵¹, Aib⁶⁷, A1b⁶⁹, A6c⁵⁴, N-Me-Cys⁴⁷, N-Me-Cys⁴⁸, Pen⁵² y Pen⁶¹.

Aún otro subconjunto de los compuestos incluidos en la fórmula (I) y descritos en el presente documento, abarca compuestos en los que A⁵⁹ es Ile, en donde dichos compuestos contienen al menos una sustitución más de aminoácidos, seleccionada a partir del grupo que consiste en Arg⁵⁸, Arg⁴⁹, Arg⁵¹ y Arg⁵³.

15 Aún otro subconjunto de los compuestos incluidos en la fórmula (I) y descritos en el presente documento, abarca compuestos en los que A⁵⁹ es Arg, Asp, A6c, Gln, Glu, Ser, Trp o Tyr.

Los compuestos preferidos de la invención son:

Ejemplo 1: (Asn³⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:1)

Ejemplo 2: (Asn⁵⁹)hIGF-1(1-62)-OH; (SEQ ID NO:2)

Ejemplo 3: (Asn⁵⁹)hIGF-1(4-70)-OH; (SEQ ID NO:3)

Ejemplo 4: (Pro²⁷, Lys²⁸, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:4)

Ejemplo 5: (Pro²⁷, Lys²⁸, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-62)-OH; (SEQ ID NO:5)

Ejemplo 6: (Ser⁵³, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:6)

Ejemplo 7: (Ser-Gly¹, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:7)

Ejemplo 8: (Asn⁵⁹, Thr⁶³, des-Leu⁶⁴, des-Lys⁶⁵, Glu⁷⁰)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:8)

Ejemplo 9: (Tyr⁵⁵, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:9)

Ejemplo 10: (Thr⁴⁹, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:10)

Ejemplo 11: (Asn^{59,62})hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:11)

Ejemplo 12: (Asn⁵⁹, Phe⁶⁰)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:12)

Ejemplo 13: (Ser⁵⁰, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:13)

Ejemplo 14: (Gln⁵⁶, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; (SEQ ID NO:14)

Ejemplo 15: (Asn⁵⁹, D-Pro⁶³)hIGE-1(1-70)-OH;

Ejemplo 16: (Asn⁵⁹, D-Leu⁶⁴)hIGF-1(1-70)-OH;

Ejemplo 17: (Asn⁵⁹, D-Lys⁶⁵)hIGF-1(1-70)-OH;

Ejemplo 18: (Asn⁵⁹, D-Pro⁶⁶)hIGF-1(1-70)-OH;

Ejemplo 19: (Asn⁵⁹, D-Ala⁶⁷)hIGF-1(1-70)-OH;

Ejemplo 20:	(Asn ⁵⁹ , D-Lys ⁶⁸)hIGF-1(1-70)-OH;	
Ejemplo 21:	(Asn ⁵⁹ , D-Ser ⁶⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	
Ejemplo 22:	(Asn ⁵⁹ , D-Ala ⁷⁰)hIGF-1(1-70)-OH;	
Ejemplo 55:	(Met-Gly ¹ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH.	(SEQ ID NO:47)
Ejemplos de otros compuestos descritos también en esta memoria son:		
Ejemplo 23:	(Arg ^{27,65,68} , Leu ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:15)
Ejemplo 24:	(Leu ⁵⁹ , Arg ^{65,68})hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:16)
Ejemplo 25:	(Leu ^{49,59})hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:17)
Ejemplo 26:	(β-Me-Cys ⁵² , Leu ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:18)
Ejemplo 27:	(β-Me-Cys ⁴⁷ , Leu ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:19)
Ejemplo 28:	(Leu ⁵⁹ , Glu ⁷¹)hIGF-1(1-71)-OH;	(SEQ ID NO:20)
Ejemplo 29:	(Leu ⁵⁹ , Asp ⁷¹)hIGF-1(1-71)-OH;	(SEQ ID NO:21)
Ejemplo 30:	(Leu ⁵⁹ , Lys ⁷¹)hIGF-1(1-71)-OH;	(SEQ ID NO:22)
Ejemplo 31:	(Leu ⁵⁹ , Ser ⁷¹)hIGF-1(1-71)-OH;	(SEQ ID NO:23)
Ejemplo 32:	(Leu ⁵⁹ , Thr ⁶⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:24)
Ejemplo 33:	(Thr ⁵¹ , Leu ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:25)
Ejemplo 34:	(N-Me-Cys ⁴⁷ , Nle ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:26)
Ejemplo 35:	(Nle ⁵⁹ , Aib ⁶⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:27)
Ejemplo 36:	(N-Me-Cys ⁴⁸ , Nle ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:28)
Ejemplo 37:	(Nle ⁵⁹ , Aib ⁶⁷)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:29)
Ejemplo 38:	(Cys ⁵² , Nle ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:30)
Ejemplo 39:	(Aib ⁵¹ , Nle ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:31)
Ejemplo 40:	(Pen ⁵² , Nle ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:32)
Ejemplo 41:	(Nle ⁵⁹ , Pen ⁶¹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:-33)
Ejemplo 42:	(A6c ⁵⁴ , Nle ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:34)
Ejemplo 43:	(Arg ⁵³ , Ile ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:35)
Ejemplo 44:	(Arg ⁴⁹ , Ile ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:36)
Ejemplo 45:	(Arg ⁵¹ , Ile ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:37)
Ejemplo 46:	(Arg ⁵⁸ , Ile ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:38)

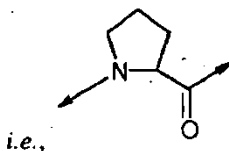
Ejemplo 47:	(A6c ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:39)
Ejemplo 48:	(Asp ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:40)
Ejemplo 49:	(Trp ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:41)
Ejemplo 50:	(Ser ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:42)
Ejemplo 51:	(Tyr ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:43)
Ejemplo 52:	(Glu ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:44)
Ejemplo 53:	(Gln ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; y	(SEQ ID NO:45)
Ejemplo 54:	(Arg ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;	(SEQ ID NO:46)

Descripción detallada de la invención

La solicitud emplea las siguientes abreviaturas que se entienden en general:

	Acc:	ácido 1-amino-1-cicloalquil(C ₃ -C ₉)carboxílico
	Acc incluye:	
5	A3c:	ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico
	A4c:	ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico
	A5c:	ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico
	A6c:	ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico
	Aib:	ácido α-aminoisobutírico
10	Ala o A:	alanina
	Arg o R:	arginina
	Asn o N:	asparagina
	Asp o D:	ácido aspártico
	Cys o C:	cisteína
15	cistina:	dímero de disulfuro de cisteína
	hCys:	homocisteína
	β-Me-Cys:	beta-metil-cisteína, es decir, ácido (2S, 3S)-2-amino-3-mercaptobutírico
	N-Me-Cys:	N-metil-cisteína
	Gin o Q:	glutamina
20	Glu o E:	ácido glutámico
	Gly o G:	glicina
	Ile o I:	isoleucina
	Leu o L:	leucina
	des-Leu:	Leu eliminada
25	Lys o K:	lisina
	des-Lys:	Lys eliminada
	Met o M:	metionina

- | | | |
|---|----------|--------------|
| | Nle: | norleucina |
| | Pen: | penicilamina |
| | Phe o F: | fenilalanina |
| | Pro o P: | prolina |
| 5 | Ser o S: | serina |
| | Thr o T: | treonina |
| | Trp o W: | triptófano |
| | Tyr o Y: | tirosina |
| | Val o V: | valina |
- 10 Todas las abreviaturas (p. ej., Ala) de los aminoácidos en esta descripción representan la estructura de $-NR-CR'(R'')-CO-$, en donde R' y R'' es cada uno, independientemente, hidrógeno o la cadena lateral de un aminoácido (por ejemplo, R' = H y R'' = CH₃ para alanina) y en donde R = H o CH₃, excepto para la prolina,



- 15 Un péptido descrito en este documento también se indica en este documento a través de otro formato, p. ej., (Asn⁵⁹)IGF-1(1-70)-OH (SEQ ID NO:1), con los aminoácidos sustituidos de la secuencia natural colocados entre los paréntesis (es decir, Asn para Met en la posición 59 del IGF-1 de tipo silvestre). El intervalo que se encuentra dentro de los paréntesis se refiere a aquellos aminoácidos que se encuentran en el análogo. Por ejemplo, "IGF-1(4-68)-OH" (SEQ ID NO:48) indica que el análogo se compone de los aminoácidos 4 hasta 68 que se corresponden con la
- 20 secuencia peptídica del IGF-1 de tipo silvestre. "NH₂" en "IGF-1(1-70)-NH₂" (SEQ ID NO:49) indica que el extremo C-terminal del péptido está amidado. "IGF-1(1-70)" o "IGF-1(1-70)-OH" indica que el extremo C-terminal del péptido es el ácido libre (SEQ ID NO:50).

Algunas otras abreviaturas utilizadas en este documento se definen del modo siguiente:

- | | | |
|----|--------|--|
| | Act: | acetonitrilo |
| | Boc: | <i>tert</i> -butiloxicarbonilo |
| 25 | BSA: | albúmina de suero bovino |
| | DCM: | diclorometano |
| | DIPEA: | diisopropiletilamina |
| | DMEM: | Medio de Eagle Modificado con Dulbecco |
| | DMF: | dimetilformamida |
| 30 | DTT: | ditiotreitól |
| | ESI: | ionización por electroespray |
| | FCS: | suero de ternera fetal |
| | Fmoc: | 9-fluorenilmetiloxicarbonilo |
| | HBTU: | hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio |
| 35 | HOBt: | N-hidroxibenzotriazol |
| | HPLC: | cromatografía líquida de alto rendimiento |
| | LC-MS: | cromatografía líquida-espectrometría de masas |
| | MPAA: | ácido 4-mercaptofenilacético |

NMP:	N-metilpirrolidona
O <i>t</i> Bu:	éster O- <i>terc</i> -butilico
Pbf:	2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofurano-5-sulfonilo
QC:	control de calidad
5 <i>t</i> Bu:	<i>terc</i> -butilo
TCA:	ácido tricloroacético
TCEP	tris-2-carboxietil-fosfina
TIS:	triisopropilsilano
TFA:	ácido trifluoroacético
10 Tris:	2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol
Trt:	tritol
espectroscopía UV:	espectroscopía ultravioleta

"Alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo que contiene uno o varios átomos de carbono en el que múltiples átomos de carbono, si están presentes, están unidos por enlaces sencillos. Ejemplos de los cuales incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo y butilo. El grupo hidrocarburo alquilo puede ser de cadena lineal o contener una o varias ramificaciones o grupos cíclicos, ejemplos de los cuales incluyen, pero no se limitan a, isopropilo y *terc*-butilo.

"Alquilo sustituido" se refiere a un alquilo en el que uno o varios átomos de hidrógeno del grupo hidrocarburo se sustituyen con uno o varios sustituyentes, seleccionados a partir del grupo que consiste en halógeno, OH, CN, SH, NH₂, NHCH₃, NO₂, alquilo (C₁₋₂) sustituido con 1 a 6 halógenos, CF₃, OCH₃, OCF₃ y (CH₂)₀₋₄-COOH. En diferentes realizaciones, están presentes 1, 2, 3 o 4 sustituyentes.

"Ariilo" se refiere a un grupo aromático opcionalmente sustituido con al menos un anillo que tiene un sistema de electrones pi conjugados, que contiene hasta tres sistemas de anillos conjugados o fusionados. Ariilo incluye grupos ariilo carbocíclico, ariilo heterocíclico y biarilo. Preferiblemente, el ariilo es un anillo de 5 o 6 miembros. Los átomos preferidos para un ariilo heterocíclico son uno o varios azufres, oxígenos y/o nitrógenos. Ejemplos de ariilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, indol, quinolina, 2-imidazol y 9-antraceno. Los sustituyentes de ariilo se seleccionan a partir del grupo que consiste en alquilo-C₁₋₂₀, alcoxi-C₁₋₂₀, halógeno, -OH, -CN, -SH, -NH₂, -NO₂, alquilo-C₁₋₂₀ sustituido con halógenos, -CF₃, -OCF₃ y -(CH₂)₀₋₂₀-COOH. En diferentes realizaciones, el ariilo contiene 0, 1, 2, 3, o 4 sustituyentes.

"Alquil-ariilo" se refiere a un "alquilo" que se une a un "ariilo".

Procedimientos Sintéticos

Los análogos ejemplificados de IGF-1 descritos en este documento se prepararon mediante una primera etapa de síntesis de fragmentos peptídicos, una segunda etapa de ligación y una tercera etapa de plegamiento. Los siguientes procedimientos sintéticos ilustran como un químico experto sería capaz de preparar uno cualquiera de los análogos ejemplificados de IGF-1 descritos en esta memoria.

A) Síntesis de un fragmento peptídico de (Gln⁵⁶, Asn⁵⁹)hIGF-1(48-70)-OH, es decir, Cys-Phe-Arg-Ser-Cys-Asp-Leu-Arg-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Ala-Pro-Leu-Lys-Pro-Ala-Lys-Ser-Ala-OH (SEQ ID NO:51)

La síntesis de péptidos en fase sólida basada en Fmoc se utilizó para ensamblar el fragmento peptídico del título usando la ayuda de microondas en un Sintetizador de Péptidos de Liberty (CEM; Matthews, NC, EE.UU.). El primer fragmento de 14 residuos, es decir, los residuos 57-70 de hIGF-1, o el péptido ácido del extremo C-terminal, se sintetizó a una escala de 1,0 mmol usando una resina Fmoc-Ala-Wang (0,72 meq/g). El fragmento peptídico resultante se dividió después en cuatro lotes de 0,25 mmol para la elongación y la diferenciación. Una muestra de resina de 1,36 g se colocó en un tubo cónico de 50 mL junto con 15 mL de una solución 1:1 de DMF y DCM que se cargó en posición en el sintetizador. Después, la resina se transfirió al recipiente de la reacción a través de un proceso automatizado del sintetizador. Se utilizó el protocolo estándar de Liberty para una síntesis a escala de 1,0 mmol. El protocolo implicaba la eliminación del grupo protector Fmoc N-terminal mediante un tratamiento con 20 mL de piperidina al 20% que contenía HOBt 0,1 M en DMF. La etapa inicial de desprotección con un generador de microondas (45 vatios, temperatura máxima de 75°C) y nitrógeno burbujeante (3 segundos encendido, 7 segundos apagado) duró 30 segundos. El recipiente de la reacción se drenó y la resina se lavó a fondo con DMF varias veces. El siguiente aminoácido (Ciclo 1) que se iba a añadir al péptido en crecimiento, (Fmoc-Ser(*t*Bu)-OH) preparado como una solución madre 0,2 M en DMF, se añadió entonces (15 mL, 3 equivalentes). Se añadieron 6,0 mL de HBTU 0,45 M (3 equivalentes) en DMF seguidos por 3,0 mL de DIPEA 2 M (6 equivalentes) en NMP. La etapa de acoplamiento

se realizó usando un generador de microondas (20 vatios, temperatura máxima de 75°C) con burbujeo de nitrógeno a la misma velocidad que en la etapa de desprotección, durante un período de 5 minutos. El recipiente de la reacción se drenó después como desecho y la etapa de acoplamiento se repitió.

5 El protocolo de acoplamiento para Fmoc-Cys(Trt)-OH era una versión ligeramente modificada del protocolo convencional. Para los residuos Cys, no se aplicó un generador de microondas durante los primeros 2 minutos. A continuación siguió una sesión de 4 minutos de generador de microondas (20 vatios, temperatura máxima de 50°C). Todos los aminoácidos se introdujeron de manera similar, empleando una estrategia de acoplamiento doble a lo largo de toda la secuencia. Los ciclos de síntesis para el fragmento peptídico del título después de la primera Ser fueron del modo siguiente: Ciclo 2, Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 3, Fmoc-Ala-OH; Ciclo 4, Fmoc-Pro-OH; Ciclo 5, Fmoc-Lys(Boc)-OH; Ciclo 6, Fmoc-Leu-OH; Ciclo 7, Fmoc-Pro-OH; Ciclo 8, Fmoc-Ala-OH; Ciclo 9, Fmoc-Cys(Trt)-OH; Ciclo 10, Fmoc-Tyr(tBu)-OH; Ciclo 11, Fmoc-Asn(Trt)-OH; Ciclo 12, Fmoc-Glu(OtBu)-OH; y Ciclo 13, Fmoc-Leu-OH.

15 Una vez que se completó el fragmento peptídico inicial, la resina se transfirió de vuelta al tubo cónico de 50 mL usando DMF como disolvente. La resina se dividió manualmente de manera uniforme en cuatro muestras que se pusieron en cuatro tubos cónicos de 50 mL que después se colocaron de nuevo en el sintetizador. La porción restante del péptido del título se sintetizó a una escala 0,25 mmol. El protocolo utilizado fue el mismo que el utilizado para la síntesis a mayor escala, sin embargo, se utilizaron menores cantidades de reactivos. La eliminación del grupo protector Fmoc N-terminal consistió en el tratamiento con una solución que contenía 10 mL de 20% de piperidina y HOBt 0,1 M en DMF. La etapa inicial de desprotección con un generador de microondas (45 vatios, temperatura máxima de 75°C) con nitrógeno burbujeante (3 segundos encendido, 7 segundos apagado) duró 30 segundos. El recipiente de la reacción se drenó después y la resina se lavó a fondo con DMF varias veces. El siguiente aminoácido (Ciclo 14), preparado como una solución madre 0,2 M en DMF, se introdujo a continuación (5,0 mL, 4 equivalentes) en el péptido en crecimiento (Fmoc-Gln(tBu)-OH). Después se añadieron 2,0 mL de una solución 0,45 M (4 equivalentes) de HBTU en DMF seguido por 1,0 mL de una solución 2 M (8 equivalentes) de DIPEA en NMP.

25 Los protocolos de acoplamiento para Fmoc-Cys(Trt)-OH y Fmoc-Arg(Pbf)-OH eran versiones del protocolo convencional ligeramente modificadas. Para el acoplamiento de los residuos Cys, el generador de microondas estaba inicialmente apagado durante los primeros 2 minutos y luego se encendió durante 4 minutos (20 vatios, temperatura máxima de 50°C). Para el acoplamiento de los residuos Arg, no se empleó un generador de microondas en el primer acoplamiento, sin embargo, fue necesaria una segunda etapa de acoplamiento convencional. Los Ciclos 14, 16 y 21 empleaban un procedimiento de terminación de cadena, el cual estaba inmediatamente seguido por la etapa de acoplamiento, que implicaba la adición de 7 mL de anhídrido acético 0,5 M que contenía HOBt 0,015 M y 2 mL de DIPEA 2 M ambos en NMP, mientras que se utilizaba un protocolo de microondas de etapas múltiples (50 vatios durante 30 segundos con una temperatura máxima de 65°C, después ningún generador durante 30 segundos, 50 vatios durante 30 segundos con una temperatura máxima de 65°C, después ningún generador durante 30 segundos). Los ciclos de la síntesis para el fragmento peptídico del título después de Gln fueron los siguientes: Ciclo 15, Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Ciclo 16, Leu-OH; Ciclo 17, Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Ciclo 18, Fmoc-Cys(Trt)-OH; Ciclo 19, Fmoc-Ser(tBu)-OH; Ciclo 20, Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Ciclo 21, Fmoc-Phe-OH; y Ciclo 22, Fmoc-Cys(Trt)-OH.

40 Después de la terminación de la cadena principal del péptido, el grupo protector N-terminal Fmoc se retiró y la resina se lavó de nuevo con DMF. A continuación, la resina se transfirió de nuevo al tubo cónico de 50 mL usando DMF como disolvente de transferencia.

45 La resina se transfirió a un recipiente de la reacción con una frita de vidrio sinterizado. La DMF se eliminó y la resina se lavó a fondo con DCM. El fragmento peptídico se escindió y se desprotegió mediante el tratamiento con el siguiente reactivo: 5% de TIS : 5% de agua : 90% de TFA. La reacción se dejó proceder durante 3 horas a temperatura ambiente con agitación constante. Después, la solución se filtró en un tubo cónico de 50 mL. El TFA se redujo por evaporación con flujo de gas nitrógeno. El fragmento peptídico precipitó por la adición de 40 mL de éter etílico frío seguido de centrifugación a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C en una centrífuga refrigerada (Sorvall Legend RT; Thermo Fisher, San Jose, CA, EE.UU.). El sedimento resultante se disolvió en 0,1% de TFA en agua antes de la purificación mediante HPLC preparativa, equipada con una columna de fase inversa C18 (columna Luna, 10 µm, 250 x 21,2 mm) utilizando un gradiente de acetonitrilo de 0-60% (0,1% de TFA) durante 50 minutos con un caudal de 10 mL/min. El fragmento peptídico purificado se analizó por HPLC (columna Luna C18, 3 µm, 4,6 x 100 mm) con un gradiente de 5-80% de acetonitrilo (0,08% de TFA) durante 30 minutos con un caudal de 1 mL/min) y mediante espectrometría de masas (LCQ Advantage; Thermo Fisher, San Jose, CA, EE.UU.). El fragmento peptídico se liofilizó posteriormente y se almacenó a -50°C para un uso futuro.

55 **B) Síntesis del fragmento peptídico de h1GF-1(1-47)-tioéster, es decir, Gly-Pro-Glu-Thr-Leu-Cys-Gly-Ala-Glu-Leu-Val-Asp-Ala-Leu-Gln-Phe-Val-Cys-Gly-Asp-Arg-Gly-Phe-Tyr-Phe-Asn-Lys-Pro-Thr-Gly-Tyr-Gly-Ser-Ser-Ser-Arg-Arg-Ala-Pro-Gln-Thr-Gly-Ile-Val-Asp-Glu-Cys-tioéster-propionil-Leu-NH₂ (SEQ ID NO:52)**

60 El fragmento peptídico N-terminal, es decir, los residuos 1-47 de h1GF-1, se ensambló usando una síntesis de péptidos en fase sólida basada en la química de Boc. Un sintetizador de péptidos ABI 433A (Applied Biosystems; Foster City, CA, EE.UU.) modificado para ejecutar el protocolo FastBoc estándar, se utilizó para la síntesis a escala 0,5 mmol. El recipiente de la reacción que contenía 0,645 mg de 0,77 meq/g de resina Tampil, se colocó sobre el

sintetizador. Para hinchar la resina, se introdujo DMF. El protocolo 0.5 de ABI FastBoc se utilizó para generar el fragmento. Cada ciclo consistía en desbloquear el grupo protector Boc N-terminal con TFA puro, seguido de un lavado a fondo con DMF. Cartuchos preenvasados 2,0 mmol (4 equivalentes) de cada aminoácido se disolvieron a continuación en HBTU 0,40 M y DMF. Después de completar la disolución de cada aminoácido, la solución se transfirió automáticamente al recipiente de activación. Una solución de DIPEA (puro) se introdujo en el recipiente de activación y se expuso a la resina durante un período prolongado. El recipiente de la reacción se vació y la resina se lavó con DMF. Para los cartuchos de Arg/Asn, se requiere un tiempo de activación prolongado para asegurar la solubilidad. Además, cualquier aminoácido añadido inmediatamente después del acoplamiento de un residuo de Gln, se lavó con DCM, tanto antes como después del protocolo de desbloqueo. El tiempo del acoplamiento fue de 30 minutos. Los siguientes aminoácidos se utilizaron para el fragmento peptídico del título: Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asp(cHex)-OH, Boc-Glu(cHex)-OH, Boc-Asn(Xan)-OH, Boc-Cys(4Me-Bzl)-OH, Boc-Lys(CIz)-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Ser(OBzl)-OH, Boc-Thr(OBzl)-OH y Boc-Tyr(BrZ)-OH.

Después del último ciclo de acoplamiento, la resina se lavó con DCM y se secó. El fragmento de péptido se desprotegió y se escindió de la resina usando un tratamiento con 10 mL de fluoruro de hidrógeno y anisol. La reacción se dejó proceder durante 70 minutos, momento en el cual el fluoruro de hidrógeno fue desviado con una corriente de nitrógeno. El residuo se lavó con éter y después el péptido se disolvió en 10-15 mL de TFA. El fragmento peptídico precipitó mediante la filtración de TFA en 40 mL de éter etílico frío, seguido de centrifugación a 3000 rpm durante 30 minutos a 4°C en una centrífuga refrigerada (Sorvall Legend RT; Thermo Fisher, San Jose, CA, EE.UU.). El sedimento resultante se disolvió en 0,1% de TFA en agua y se purificó mediante HPLC preparativa, equipada con una columna de fase inversa C18 (columna Luna, 10 µm, 250 x 21,2 mm) utilizando un gradiente de 20-40% de acetonitrilo (0,1% de TFA) durante 120 minutos con un caudal de 10 mL/min. El fragmento peptídico purificado se analizó por HPLC (columna Luna C18, 3 µm, 4,6 x 100 mm) con un gradiente de 5-80% de acetonitrilo (0,08% de TFA) durante 30 minutos con un caudal de 1 mL/min y mediante espectrometría de masas (LCQ Advantage; Thermo Fisher, San Jose, CA, EE.UU.). El fragmento peptídico se liofilizó posteriormente y se almacenó a -50°C para un uso futuro.

C) Procedimiento general de ligación

Los análogos de hIGF-1 de longitud completa se construyeron mediante el método de ligación química que se produce naturalmente entre un fragmento de tioéster N-terminal, por ejemplo, hIGF-1(1-47)-S-(CH₂)₂C(O)-Leu-NH₂ (SEQ ID NO:52), y un fragmento C-terminal, por ejemplo, (Gln⁵⁶, Asn⁵⁹)hIGF-1(48-70)-OH (SEQ ID NO:51), que contiene un residuo de cisteína en su extremo N-terminal.

Para iniciar el procedimiento para el péptido del título, 5,5 mg del fragmento C-terminal de hIGF-1 se disolvieron en 0,5 mL de tampón de ligación (fosfato de sodio 200 mM, pH 8,5, hidrocloreuro de guanidina 6 M) en un tubo Eppendorf de 1,5 mL. A esta solución, se añadieron 100 µL de una solución de TCEP (40 mg/mL) y la mezcla se agitó en vórtex. La mezcla se transfirió a un segundo tubo Eppendorf que contenía 6,5 mg del fragmento de tioéster de hIGF-1 N-terminal. Los reactivos se mezclaron a fondo. Se retiró una pequeña muestra (5 µL) y se analizó mediante LC-MS (LCQ Deca XP; Thermo Fisher, San Jose, CA, EE.UU.). A la mezcla de la reacción se añadieron 100 µL de una solución de MPAA (20 mg/mL) seguida de mezcla. Las muestras (5 µL) se extrajeron periódicamente con el fin de seguir el progreso de la reacción mediante LC-MS. Después de aproximadamente 3,5 horas, cuando la reacción casi se había completado, la mezcla se inactivó y se diluyó mediante la adición de 9,5 mL de 0,1% de TFA en agua. El producto de la ligación se purificó por HPLC semipreparativa (Vydac 218TP101510, C18, 10-15 µm, 10 x 250 mm) con un gradiente de 5-80% de acetonitrilo (0,1% de TFA) durante 40 minutos con un caudal de 5 mL/min. El pico del producto se liofilizó y se almacenó a -50°C. La masa del producto de ligación sin plegar se determinó mediante medición física.

D) Procedimiento general de plegado (pareja redox de glutatión) para el Ejemplo 14, es decir, (Gln⁵⁶, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH (SEQ ID NO:14)

La proteína, preparada mediante el procedimiento de ligación de la etapa C) como se ha descrito anteriormente, se disolvió en tampón de ligación (fosfato de sodio 200 mM, pH 8,5, hidrocloreuro de guanidina 6 M) hasta una concentración de 1 mg/mL. El tampón de plegamiento (Tris 100 mM, pH 8,5, glutatión oxidado 1 mM, glutatión reducido 10 mM) se añadió entonces para llevar la concentración final de proteína a 0,25 mg/mL. Se permitió que el proceso de plegamiento se produjera durante más de 3 horas. Después, la reacción se inactivó mediante la adición gota a gota de TFA hasta que la mezcla de reacción alcanzó un pH ≤ 3. El producto se purificó después por HPLC semipreparativa (Vydac 218TP101510, C18, 10-15 µm, columna 10 x 250 mm) con un gradiente de 5-60% de acetonitrilo (0,1% de TFA) durante 40 minutos con un caudal de 5 mL/min. El producto se liofilizó. El contenido en proteína se determinó redisolviendo el producto en 0,1% de TFA en agua y luego midiendo la absorbancia a 280 nm (espectrofotómetro NanoDrop ND1000). A continuación, se analizó la proteína para la QC (HPLC y MS).

E) Procedimiento de oxidación para la formación de (glioxilil-Gly¹, Asn⁵⁹)hIGF-1 (1-70)-OH (SEQ ID NO:53) a partir del Ejemplo 7, es decir, (Ser-Gly¹, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH (SEQ ID NO:7)

La masa del análogo plegado de hIGF-1 se determinó por absorbancia a 280 nm en 0,1% de TFA en agua (espectrofotómetro NanoDrop ND 1000). La proteína, preparada por el procedimiento de plegamiento de la etapa D)

como se ha descrito anteriormente, se volvió a disolver en tampón de imidazol 50 mM (pH 7,0) hasta una concentración final de 2 mg/ml ($2,66 \times 10^{-4}$ M). El periodinato de sodio (NaIO_4) (4 equivalentes) disuelto en tampón de imidazol se añadió y la solución resultante se agitó suavemente. Se permitió que la reacción procediera a temperatura ambiente sin una agitación adicional. Después de 5 minutos, la reacción se inactivó con la adición de 10 equivalentes de etilenglicol. La mezcla se dejó en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con 0,1% de TFA en agua hasta un volumen final de 10 mL. A continuación, el producto se purificó por HPLC semipreparativa (columna Vydac 218TP101510, C18, 10-15 μm , 10 x 250 mm) con un gradiente de 5-60% de acetonitrilo (0,1% de TFA) durante 40 minutos con un caudal de 5 mL/min. El producto se liofilizó después y se almacenó a -50°C hasta que se necesitó.

10 **F) Procedimiento sintético para el Ejemplo 27, es decir, (β -Me-Cys⁴⁷, Leu⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH (SEQ ID NO: 19)**

La proteína del título se ensambló a través de una ligación química natural, usando hIGF(1-46)-tio-propionil-Leu-NH₂ (SEQ ID NO: 54) y el fragmento C-terminal, es decir, (β -Me-Cys⁴⁷, Leu⁵⁹)hIGF-1(47-70) (SEQ ID NO:55). El tioéster de la proteína (7,4 mg, 1,45 μmoles) y el fragmento C-terminal (3,8 mg, 1,38 μmoles) se disolvieron en tampón de ligación (clorhidrato de guanidina 6 M en fosfato de sodio 200 mM, pH 8,5, 400 μL) y TCEP (80 μL , 40 mg/mL, pH 7). Se añadió un catalizador MPAA (80 μL , 20 mg/mL, pH 7). El progreso de la reacción se vigiló en un LCQ Deca XP LC-MS (Thermo Finnigan) con una columna Luna C18(2) (5 μm , 4,6 x 100 mm) con un gradiente de 5-80% de acetonitrilo (0,1% de TFA) durante 30 minutos. La reacción se inactivó con una dilución 1:10 con dH_2O , 0,1% de TFA (v/v). La mezcla en bruto se centrifugó y se pasó a través de un filtro de vidrio de 1,0 μm para eliminar cualquier precipitado de MPAA. La proteína de longitud completa se purificó usando un gradiente lineal de B de 5-60% durante 40 minutos con un caudal de 5 mL/min en una columna Vydac C18 (10 μm , 10 x 250 mm). La proteína se cuantificó por espectroscopía de UV (Espectrofotómetro NanoDrop ND1000) y se liofilizó para uso futuro.

La proteína almacenada (1,8 mg, 235 nmoles) se disolvió en una solución de H_2PO_4^- 200 mM, guanidinio-HCl 6 M que tenía pH 8,5 hasta una concentración de 1,0 mg/mL. El tampón de plegamiento (Tris 100 mM, glutatión 10 mM, glutatión oxidado 1 mM a pH 8,5) se añadió a la solución hasta que se consiguió una concentración final de proteína de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente mientras que se controlaba por HPLC. Una vez que se alcanzó el equilibrio (como se visualizaba por un perfil de HPLC estable), la reacción se inactivó mediante agitación, ya sea en ácido acético o TFA para llevar la solución a pH 3. La solución se purificó usando primero un filtro de vidrio de 1,0 μm y después una columna semipreparativa.

La proteína plegada se purificó usando un gradiente lineal de B de 5-60% durante 40 minutos con un caudal de 5 mL/min. La proteína se cuantificó por UV (espectrofotómetro NanoDrop ND1000) y se liofilizó. Se obtuvieron aproximadamente 92 μg de producto purificado, lo que representaba un rendimiento del 5%. La masa de la proteína se verificó en un Finnigan LCQ Advantage MAX MS.

30 **G) Procedimiento sintético para el Ejemplo 36, es decir, (N-Me-Cys⁴⁸, Nle⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH (SEQ ID NO:28)**

La proteína del título se ensambló utilizando una ligación química natural, usando hIGF-1(1-47)-tio-propionil-Leu-NH₂ (SEQ ID NO:52) y el fragmento C-terminal, es decir, (N-Me-Cys⁴⁸, Nle⁵⁹)hIGF-1(48-70) (SEQ ID NO:56). El tioéster de proteína (4,3 mg, 824 moles) y el fragmento C-terminal (2,1 mg, 790 nmoles) se disolvieron en tampón de ligación (400 μL de clorhidrato de guanidina 6 M en fosfato de sodio 200 mM, pH 8,5) y TCEP (80 μL , 40 mg/mL, pH 7). Se añadió un catalizador MPAA (80 μL , 20 mg/mL, pH 7). El progreso de la reacción se vigiló empleando un Finnigan LCQ Deca XP LC-MS con una columna Luna C18(2) (5 μm , 4,6 x 100 mm) que tenía un gradiente de 5-80% de acetonitrilo (0,1% de TFA) durante 30 minutos. La reacción se inactivó con una dilución 1:10 con dH_2O , 0,1% de TFA (v/v). La mezcla en bruto se centrifugó y se pasó a través de un filtro de vidrio de 1,0 μm para eliminar cualquier precipitado de MPAA. La proteína de longitud completa se purificó usando una columna Vydac C18 (10 μm , 10 x 250 mm) con un gradiente lineal de B de 5-60% durante 40 minutos con un caudal de 5 mL/min. La proteína se cuantificó mediante UV (espectrofotómetro NanoDrop ND1000) y se liofilizó para uso futuro.

La proteína almacenada se disolvió utilizando una solución de H_2PO_4^- 200 mM, guanidinio-HCl 6 M (pH 8,5) hasta que se alcanzó una concentración de 1,0 mg/mL. El tampón de plegamiento (Tris 100 mM, glutatión 10 mM, glutatión oxidado 1 mM a pH 8,5) se añadió a la solución hasta que se consiguió una concentración final de proteína de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente mientras que se controlaba por HPLC. Una vez que se alcanzó el equilibrio (como se visualizaba por un perfil de HPLC estable), la reacción se inactivó con ácido acético o TFA a pH 3. La solución se purificó usando primero un filtro de vidrio de 1,0 μm y después una columna semipreparativa.

La proteína plegada se purificó usando un gradiente lineal de B de 5-60% con un caudal de 5 mL/min durante 40 minutos. La proteína se cuantificó por UV (espectrofotómetro NanoDrop ND1000) y se liofilizó. Se obtuvieron aproximadamente 0,415 mg de producto purificado, lo que representaba un rendimiento del 10,6%. La masa de la proteína se verificó en un Finnigan LCQ Advantage MAX MS.

Otros péptidos descritos en este documento pueden ser preparados por una persona con experiencia ordinaria en la técnica, usando procedimientos sintéticos análogos a los descritos en los ejemplos anteriores. Los datos físicos para los compuestos ejemplificados en el presente documento se proporcionan en la Tabla 1.

ES 2 562 260 T3

Tabla 1

Ejemplo Número	Peso Mol. (Esperado)	Peso Mol. (ESI-MS)	% de Pureza (HPLC)
1	7631,6	7631,6	99,9
2	6838,6	6839,5	95,2
3	7348,3	7347,9	93,0
4	7631,6	7632,1	97,7
5	6838,6	6839,3	95,9
6	7603,6	7602,5	99,9
7	7718,7	7718,7	99,9
8	7452,3	7454,1	99,9
9	7638,6	7639,7	99,9
10	7585,5	7586,0	99,9
11	7674,6	7675,3	99,9
12	7615,6	7616,9	99,9
13	7562,5	7563,6	99,9
14	7603,6	7605,1	98,5
15	7631,6	7634,1	96,8
16	7631,6	7633,2	97,2
17	7631,6	7632,9	95,1
18	7631,6	7631,6	96,7
19	7631,6	7631,9	97,9
20	7631,6	7631,8	98,5
21	7631,6	7631,7	97,6
22	7631,6	7631,8	98,1
23	7714,7	7713,9	99,9
24	7686,7	7686,7	99,9
25	7596,6	7596,7	99,9

ES 2 562 260 T3

Ejemplo Número	Peso Mol. (Esperado)	Peso Mol. (ESI-MS)	% de Pureza (HPLC)
26	7644,7	7645,5	99,9
27	7644,7	7644,9	99,9
28	7759,8	7760,4	100
29	7745,8	7746,5	100
30	7758,8	7758,4	100
31	7717,7	7718,5	100
32	7644,7	7645,5	100
33	7644,7	7645,4	95,5
34	7644,7	7643,9	100
35	7628,7	7628,1	94,0
36	7644,7	7644,8	99,9
37	7644,7	7644,6	99,9
38	7644,7	7645,3	99,9
39	7628,7	7628,4	99,9
40	7658,7	7658,8	99,9
41	7658,7	7658,8	99,9
42	7642,7	7641,7	99,9
43	7671,8	7672,4	99,9
44	7641,7	7641,8	99,9
45	7699,8	7701,0	97,7
46	7657,7	7658,7	96,1
47	7642,7	7640,9	99,9
48	7632,6	7632,5	99,9
49	7703,7	7704,0	99,9
50	7604,6	7604,7	99,9
51	7680,7	7680,5	100

Ejemplo Número	Peso Mol. (Esperado)	Peso Mol. (ESI-MS)	% de Pureza (HPLC)
52	7646,6	7646,2	100
53	7645,6	7644,9	100
54	7673,7	7674,7	99,9

Ensayos Funcionales

A) Ensayo de unión al receptor de IGF-1 *in vitro*

5 Se prepararon membranas para estudios de unión de radioligandos mediante homogeneización de células humanas MCF-7 que expresaban el receptor natural de IGF-1 en 20 mL de Tris-HCl 50 mM helado con Brinkman Polytron (Westbury, NY, EE.UU.) (ajustando a 6, 15 s). Los homogeneizados se lavaron dos veces mediante centrifugación (39.000 g/10 minutos) y los sedimentos finales se resuspendieron en Tris-HCl 50 mM que contenía MgCl₂ 2,5 mM y 0,1% de BSA.

10 Para el ensayo, se incubaron partes alícuotas con [¹²⁵I]IGF-1 0,05 nM. Péptidos del ensayo de competencia sin marcar se incluyeron a veces. El volumen del ensayo final era de 0,25 ml. Después de un periodo de incubación de 120 minutos (20°C), el [¹²⁵I]IGF-1 unido (~2000 Ci/mmol, Perkin Elmer Life Sciences, Boston, MA, EE.UU.) se separó de las partículas radiactivas libres mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se decantó y se contaron las partículas radiactivas atrapadas en el sedimento, mediante espectrometría gamma (Wallac LKB, Gaithersburg, MD, EE.UU.). La unión específica se definió como el [¹²⁵I]IGF-1 total unido menos el unido en presencia de IGF-1 100 nM.

Los datos de la unión *in vitro* al receptor de IGF-1 (es decir, los valores de CI₅₀) para los compuestos ejemplificados en este documento, se proporcionan en la Tabla 2.

B) Ensayo de la bioactividad de IGF-1 *in vitro*

20 Células de ratón 3T3/R (obtenidas a partir del Dr. E. Rozengurt en UCLA en Los Angeles, CA, EE.UU.) se cultivaron en una placa de 24 pocillos (DMEM + 10% de FCS) y el cultivo se mantuvo durante 2 días.

Para el ensayo, se retiró el medio y se lavó una vez con DMEM exento de suero. A continuación, se privó de suero durante 24 horas. Después de la privación, se añadió [³H]timidina y péptidos de IGF-1. Las células se incubaron después durante 24 horas a 37°C.

25 Al final de la incubación, se aspiró el medio. Las células se lavaron entonces con una solución enfriada con hielo de 0,9% de NaCl. A continuación, se añadió una solución de TCA al 5% enfriada con hielo para una incubación durante 30 minutos a 4°C. El TCA se aspiró y los pocillos se incubaron con etanol al 95% durante 4 horas. A continuación, el medio se transfirió a un vial de centelleo líquido para el recuento de la radiactividad.

Los datos de la bioactividad de IGF-1 *in vitro* (es decir, los valores de CE₅₀) para los compuestos ejemplificados en este documento también se proporcionan en la Tabla 2.

30 C) Escrutinio *in vitro* de péptidos de IGF-1 para estudiar la reactividad cruzada con el receptor de la insulina en células U2OS

35 Las células U2OS (nº de catálogo 93-0466C3, DiscoverRX Corporation, Fremont, CA, EE.UU.) se extendieron en placas a 6 x 10⁵ células/mL en una placa de poli-D-lisina de 96 pocillos, 16 horas antes del ensayo en medio del ensayo exento de suero. La insulina de tipo silvestre (nº de catálogo 10908, Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.), el IGF-1 de tipo silvestre (Increlex®, Tercica, Inc., Brisbane, CA, EE.UU.) o un péptido de IGF-1 del ensayo descrito en la presente solicitud, se añadió con un intervalo de dosis de 10 µM (micromolar) a 0,15 nM (nanomolar), y se incubó durante 3 horas a 37°C con 5% de CO₂. El reactivo PathHunter® (nº de catálogo 93-001, DiscoverRX) se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, y se añadió a cada pocillo. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. La luminiscencia se leyó en un lector de placas Envision 2104 con multietiquetas (PerkinElmer, Inc., Waltham, MA, EE.UU.). Se analizó la actividad de cada péptido de la prueba y se expresó como valores máximo/mínimo (máx/mín). Los datos de la reactividad cruzada del receptor de insulina *in vitro* (es decir, máx/mín) para los compuestos ejemplificados en este documento, también se proporcionan en la Tabla 2.

45 Muchos de los compuestos ejemplificados en el presente documento resultaron ser significativamente más potentes que el IGF-1 de tipo silvestre que tiene un valor de CI₅₀ de 4,59 nM, un valor de CE₅₀ de 3,75 nM y el valor máx/mín de 2,1.

ES 2 562 260 T3

Tabla 2

Ejemplo Número	Cl ₅₀ (nM)	CE ₅₀ (nM)	máx/mín
1	0,57	0,51	2,1
2	0,50	2,31	N/A
3	2,41	7,17	N/A
4	0,88	1,90	N/A
5	1,14	1,89	N/A
6	0,66	0,98	N/A
7	4,11	7,41	N/A
8	19,02	32,00	N/A
9	3,62	8,31	N/A
10	2,90	1,09	N/A
11	1,85	3,34	N/A
12	1,47	5,11	N/A
13	1,25	7,02	N/A
14	5,94	3,56	N/A
15	0,81	3,70	N/A
16	2,61	7,59	N/A
17	2,77	4,59	N/A
18	0,72	3,33	N/A
19	2,77	7,69	N/A
20	1,60	3,13	N/A
21	1,57	3,95	N/A
22	0,91	4,22	N/A
23	2,69	3,86	N/A
24	2,89	2,60	N/A
25	2,40	6,72	N/A

ES 2 562 260 T3

Ejemplo Número	Cl ₅₀ (nM)	CE ₅₀ (nM)	máx/mín
26	3,60	1,28	N/A
27	0,58	1,13	N/A
28	3,25	2,12	N/A
29	13,25	4,86	N/A
30	1,95	1,87	N/A
31	2,03	1,18	N/A
32	2,66	5,45	N/A
33	2,25	2,30	N/A
34	N/A	N/A	N/A
35	3,64	3,15	N/A
36	N/A	N/A	N/A
37	23,25	3,42	N/A
38	23,13	4,21	N/A
39	28,10	0,93	N/A
40	N/A	N/A	N/A
41	N/A	N/A	N/A
42	1,49	2,01	N/A
43	1,27	5,08	N/A
44	6,31	3,69	N/A
45	9,27	6,24	N/A
46	N/A	N/A	N/A
47	1,46	1,31	N/A
48	18,49	1,81	N/A
49	4,54	2,69	N/A
50	30,63	2,63	N/A
51	2,18	1,29	N/A

Ejemplo Número	CI ₅₀ (nM)	CE ₅₀ (nM)	máx/mín
52	1,29	2,44	N/A
53	N/A	N/A	N/A
54	3,49	2,34	N/A

Administración

5 Los análogos de IGF-1 descritos en este documento se pueden proporcionar en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen, pero no se limitan a las formadas con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, láctico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, metanosulfónico, toluenosulfónico o pamoico), ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico) y ácidos poliméricos (por ejemplo, ácido tánico, carboximetilcelulosa, poliláctico, poliglicólico o copolímeros de ácidos poli(ácido láctico-ácido glicólico).

10 Un método típico de preparar una sal de un péptido descrito en este documento es bien conocido en la técnica y se puede llevar a cabo por métodos convencionales de intercambio de sales. Por ejemplo, la sal de TFA de un péptido (la sal de TFA es el resultado de la purificación del péptido mediante el uso de HPLC preparativa, eluyendo con soluciones tampón que contienen TFA) se convirtió en otra sal, tal como una sal de acetato, disolviendo el péptido en una pequeña cantidad de solución acuosa de ácido acético 0,25 N. La solución resultante se aplica a una columna de HPLC semipreparativa (Zorbax, 300 SB, C-8). La columna se eluye con (1) solución acuosa de acetato de amonio 0,1 N durante 0,5 horas, (2) solución acuosa de ácido acético 0,25 N durante 0,5 horas y (3) un gradiente lineal (20% a 100% de solución B durante 30 min) con un caudal de 4 mL/min (la solución A es una solución acuosa de ácido acético 0,25 N, y la solución B es un ácido acético 0,25 N en acetonitrilo/agua, con una relación de 80:20). Las fracciones que contienen el péptido se recogen y se liofilizan hasta sequedad.

20 La dosificación del ingrediente activo en las composiciones descritas en el presente documento se puede variar; sin embargo, es necesario que la cantidad de ingrediente activo sea de modo que se obtenga una forma de dosificación adecuada. La dosificación seleccionada depende del efecto terapéutico deseado, de la vía de administración y de la duración del tratamiento. La dosificación se determina fácilmente por el médico facultativo competente, cualificado.

25 Los compuestos descritos en el presente documento se pueden administrar por vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, inyección intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea, o un implante), nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica y se pueden formular con vehículos farmacéuticamente aceptables para proporcionar formas de dosificación apropiadas para cada vía de administración.

30 Las formas de dosificación sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla por adición con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación también pueden comprender, como es una práctica normal, sustancias adicionales distintas de las de diluyentes inertes de este tipo, p. ej., agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponadores. Los comprimidos y las píldoras se pueden preparar adicionalmente con recubrimientos entéricos.

35 Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, sin limitación, emulsiones farmacéuticamente aceptables, soluciones, suspensiones, jarabes, elixires y similares que contienen diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como agua. Además de tales diluyentes inertes, las composiciones también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, emulsionantes y agentes de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes.

40 Las preparaciones descritas en este documento para la administración parenteral, incluyen, sin limitación, soluciones acuosas o no acuosas estériles, suspensiones, emulsiones y similares. Ejemplos de disolventes no acuosos o vehículos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y aceite de maíz, gelatina y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Tales formas de dosificación también pueden contener adyuvantes tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes y dispersantes. Las preparaciones se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, incorporando agentes esterilizantes en las composiciones, radiando las composiciones y/o calentando las composiciones. Las composiciones farmacéuticas que contienen los nuevos análogos de IGF-1 descritos en este documento también se pueden preparar en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso.

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

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

5 Además, un compuesto descrito en el presente documento se puede administrar en una composición de liberación sostenida tal como las descritas en los siguientes documentos de patentes y solicitudes de patentes. El documento de patente de EE.UU. nº 5.672.659 describe composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y un poliéster. El documento de patente de EE.UU. nº 5.595.760 describe composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo en una forma gelificable. El documento de patente de EE.UU. nº 5.821.221 describe composiciones de liberación sostenida poliméricas que comprenden un agente bioactivo y quitosano. El documento de patente de EE.UU. nº 5.916.883 describe composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y ciclodextrina. El documento de publicación PCT WO99/38536 describe composiciones de liberación sostenida absorbibles de un agente bioactivo. El documento de publicación PCT WO00/04916 describe un procedimiento para la preparación de micropartículas que comprenden un agente terapéutico tal como un péptido en un procedimiento de aceite-en-agua. El documento de publicación PCT WO00/09166 describe complejos que comprenden un agente terapéutico tal como un péptido y un polímero fosforilado. El documento de publicación PCT WO00/25826 describe complejos que comprenden un agente terapéutico tal como un péptido y un polímero que es portador de una lactona no polimerizable.

20 Además, la invención descrita en el documento de patente de EE.UU. nº 7.258.864 presenta un método para el tratamiento de un sujeto que tiene una carencia del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGFD) que comprende administrar a un sujeto pediátrico humano una cantidad eficaz del IGF-1 no modificado, en donde el sujeto se caracteriza por lo siguiente: a) en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía una estatura de al menos aproximadamente 2 desviaciones estándar (SD) por debajo de una media normal para la edad y el sexo correspondiente, y b) en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía un nivel en sangre de IGF-1 de al menos aproximadamente -1 SD por debajo de los niveles medios normales, en donde el sujeto no tiene síndrome de Laron o síndrome de insensibilidad parcial a la hormona de crecimiento, y en donde dicha administración es eficaz para tratar la IGFD en el sujeto.

30 Del mismo modo, la invención descrita en el documento WO 2006/130769 presenta un método para el tratamiento de un sujeto que tiene baja estatura idiopática (ISS) que comprende administrar a un sujeto pediátrico humano que padece ISS caracterizada por una actividad o señalización endógena parcial de la hormona de crecimiento, una cantidad de IGF-1 eficaz para favorecer el crecimiento en el sujeto, en donde el sujeto se caracteriza además por lo siguiente: a) en el momento del tratamiento o antes del tratamiento inicial con IGF-1, tiene o tenía una estatura de al menos aproximadamente 2,0 desviaciones estándar (SD) por debajo de la estatura media normal para un sujeto de la misma edad y sexo, y b) tiene niveles sanguíneos de GH e IGF-1 que son al menos normales para un sujeto de la misma edad y sexo.

Además, los nuevos análogos descritos en este documento se pueden administrar solos o en combinación con otro agente terapéutico según lo determinado por un médico facultativo especializado.

40 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos empleados en este documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto ordinario en la técnica a la que pertenece esta invención.

Listado de Secuencias

- 5 <110> IPSEN Pharma S.A.S. Dong, Zheng Xin Prairie, Nicholas C Ufret, Maria L Zhang, Jundong Rothman, Deborah Comstock, Jeanne M
- <120> Análogos del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) que tienen una sustitución de aminoácidos en la posición 59
- <130> 207P/PCT2
- 10 <150> 61/271549
<151> 2009-07-22
- <160> 56
- 15 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
<211> 70
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- <220>
<223> análogo de IGF-1
- 25 <400> 1
- Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe**
1 5 10 15
- Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly**
20 25 30
- Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys**
35 40 45
- Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu**
50 55 60
- Lys Pro Ala Lys Ser Ala**
65 70
- 30 <210> 2
<211> 62
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
- 35 <220>
<223> análogo de IGF-1
- <400> 2
- Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe**
1 5 10 15
- Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly**
20 25 30
- Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys**
35 40 45
- Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala**
50 55 60
- <210> 3

<211> 67
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 3

Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe Val Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly Ser Ser Ser
 20 25 30

Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys Phe Arg Ser
 35 40 45

Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu Lys Pro Ala
 50 55 60

Lys Ser Ala
 65

10

<210> 4
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> análogo de IGF-1

20 <400> 4

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

25 <210> 5
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 5

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala
 50 55 60

5 <210> 6
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> análogo de IGF-1
 <400> 6

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Ser Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

15 <210> 7
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> análogo de IGF-1
 <400> 7

Ser Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln
 1 5 10 15
 Phe Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Gly Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys
 35 40 45
 Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro
 50 55 60
 Leu Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

25 <210> 8

<211> 68
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 8

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Thr Pro
 50 55 60

10 Ala Lys Ser Glu
 65

<210> 9
 <211> 70
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

20 <400> 9

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Tyr Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

25 <210> 10
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 10

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Thr Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 11
<211> 70
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> análogo de IGF-1

<400> 11

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Asn Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

15 <210> 12
<211> 70
<212> PRT
20 <213> Secuencia artificial

<220>
25 <223> análogo de IGF-1

<400> 12

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Phe Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 13
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 13

10

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Ser Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

<210> 14
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 14

20

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

<210> 15
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25

<220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 15

30

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Arg Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Arg Pro Ala Arg Ser Ala
65 70

<210> 16
<211> 70
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> análogo de IGF-1

10 <400> 16

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Arg Pro Ala Arg Ser Ala
65 70

15 <210> 17
<211> 70
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> análogo de IGF-1

20 <400> 17

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Leu Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 18
 <211> 70
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa = beta-metil-cisteína (B-Me-Cys)

15 <400> 18

```

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1          5          10          15
Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
          20          25          30
Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
          35          40          45
Phe Arg Ser Xaa Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
          50          55          60
-----
Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65          70
    
```

20 <210> 19
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

25 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 30 <222> (47)..(47)
 <223> Xaa = beta-metil-cisteína (B-Me-Cys)

<400> 19

```

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1          5          10          15
Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
          20          25          30
Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Xaa Cys
          35          40          45
Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
          50          55          60
-----
Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65          70
    
```

35 <210> 20
 <211> 71
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 20

5
 Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala Glu
 65 70

<210> 21
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 21

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala Asp
 65 70

<210> 22
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 22

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala Lys
 65 70

5 <210> 23
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> análogo de IGF-1
 <400> 23

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala Ser
 65 70

15 <210> 24
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> análogo de IGF-1
 <400> 24

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Thr Ala
 65 70

<210> 25
 <211> 70
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

10 <400> 25

```

    Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
    1           5           10           15
-----
    Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
           20           25           30
-----
    Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
           35           40           45
-----
    Phe Arg Thr Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala Pro Leu
           50           55           60
-----
    Lys Pro Ala Lys Ser Ala
    65           70
    
```

15 <210> 26
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

20 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (47)..(47)
 25 <223> Xaa = N-metil-cisteína (N-Me-Cys)

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (59)..(59)
 30 <223> Xaa = norleucina (Nle)

<400> 26

```

    Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
    1           5           10           15
-----
    Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
           20           25           30
-----
    Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Xaa Cys
           35           40           45
-----
    Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
           50           55           60
-----
    Lys Pro Ala Lys Ser Ala
    65           70
    
```

35 <210> 27
 <211> 70
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> análogo de IGF-1

5 <220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (59)..(59)
<223> Xaa = norleucina (Nle)

10 <220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (69)..(69)
<223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

15 <400> 27

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Xaa Ala
65 70

20 <210> 28
<211> 70
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> análogo de IGF-1

30 <220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (48)..(48)
<223> Xaa = N-metil-cisteína (N-Me-Cys)

35 <220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (59)..(59)
<223> Xaa = norleucina (Nle)

<400> 28

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

40 **Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly**

20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Xaa
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

5 <210> 29
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> análogo de IGF-1

15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

20 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (67)..(67)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Xaa Lys Ser Ala
 65 70

25 <210> 30
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> análogo de IGF-1

35 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa = homo-cisteína (hcys)

40 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

<400> 30

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Xaa Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

5

<210> 31
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> análogo de IGF-1

15

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (51)..(51)
 <223> Xaa = ácido alfa-aminoisobutírico (Aib)

20

<220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

25

<400> 31

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Xaa Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

30

<210> 32
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35

<220>
 <223> análogo de IGF-1
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (52)..(52)

<223> xaa = penicilamina (Pen)

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

5 <222> (59)..(59)

<223> Xaa = norleucina (Nle)

<400> 32

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Xaa Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

10 Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 33

<211> 70

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> análogo de IGF-1

20 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (59)..(59)

<223> Xaa = norleucina (Nle)

25 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (61)..(61)

<223> xaa = penicilamina (Pen)

30 <400> 33

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Xaa Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

35 <210> 34

<211> 70

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> análogo de IGF-1

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

5 <222> (54)..(54)

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

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

10 <222> (59)..(59)

<223> Xaa = norleucina (Nle)

<400> 34

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Xaa Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

15 Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 35

<211> 70

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> análogo de IGF-1

25 <400> 35

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Arg Leu Arg Arg Leu Glu Ile Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

30 <210> 36

<211> 70

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> análogo de IGF-1

<400> 36

ES 2 562 260 T3

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Arg Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Ile Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 37
<211> 70
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
10 <223> análogo de IGF-1

<400> 37

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Arg Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Ile Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

15 <210> 38
<211> 70
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> análogo de IGF-1

25 <400> 38

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Arg Ile Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

<210> 39
 <211> 70
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> análogo de IGF-1

10 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa = ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c)

15 <400> 39

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

20 <210> 40
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> análogo de IGF-1

30 <400> 40

ES 2 562 260 T3

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asp Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

5 <210> 41
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 41

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Trp Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

15 <210> 42
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<400> 42

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Ser Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

- <210> 43
- <211> 70
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> análogo de IGF-1
- <400> 43

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Tyr Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

- 15 <210> 44
- <211> 70
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> análogo de IGF-1
- <400> 44

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Glu Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

<210> 45
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> análogo de IGF-1

10

<400> 45

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Gln Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70

<210> 46
 <211> 70
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> análogo de IGF-1

20

<400> 46

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly

25

ES 2 562 260 T3

20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45

Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Arg Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60

Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 47
<211> 71
5 <212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> análogo de IGF-1

10 <400> 47

Met Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln
1 5 10 15

Phe Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr
20 25 30

Gly Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys
35 40 45

Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro
50 55 60

Leu Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

15 <210> 48
<211> 65
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> análogo de IGF-1

<400> 48

Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe Val Cys Gly
1 5 10 15

Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly Ser Ser Ser
20 25 30

Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys Phe Arg Ser
35 40 45

25 Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Met Tyr Cys Ala Pro Leu Lys Pro Ala
50 55 60

LYS
65

<210> 49
<211> 70

<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (70)..(70)
<223> AMIDACION

<400> 49

10 Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15
Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30
Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45
Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Met Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60
Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

<210> 50
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 50

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15
Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30
Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
35 40 45
Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Met Tyr Cys Ala Pro Leu
50 55 60
Lys Pro Ala Lys Ser Ala
65 70

20 <210> 51
<211> 23
<212> PRT
25 <213> Secuencia artificial

<220>
<223> análogo de IGF-1

30 <400> 51

Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro
1 5 10 15
Leu Lys Pro Ala Lys Ser Ala
20

<210> 52
 <211> 48
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> análogo de IGF-1
 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (48)..(48)
 <223> modificado con un grupo tioéster-propionilo
 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (48)..(48)
 <223> AMIDACION
 <400> 52
 20 Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Leu
 35 40 45
 <210> 53
 <211> 70
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> análogo de IGF-1
 30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> glioxilado
 35 <400> 53
 Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
 1 5 10 15
 Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Cys Cys
 35 40 45
 Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Asn Tyr Cys Ala Pro Leu
 50 55 60
 Lys Pro Ala Lys Ser Ala
 65 70
 40 <210> 54
 <211> 47
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> análogo de IGF-1

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (46)..(47)
 5 <223> enlazador de tioéster-propionilo

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (47)..(47)
 10 <223> AMIDACION

<400> 54

Gly Pro Glu Thr Leu Cys Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Leu Gln Phe
1 5 10 15

Val Cys Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Asn Lys Pro Thr Gly Tyr Gly
20 25 30

Ser Ser Ser Arg Arg Ala Pro Gln Thr Gly Ile Val Asp Glu Leu
35 40 45

15 <210> 55
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> análogo de IGF-1

25 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = beta-metil-cisteína (B-Me-Cys)

30 <400> 55

Xaa Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Leu Tyr Cys Ala
1 5 10 15

Pro Leu Lys Pro Ala Lys Ser Ala
20

35 <210> 56
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> análogo de IGF-1

45 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = N-metil-cisteína (N-Me-Cys)

50 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa = norleucina (Nle)

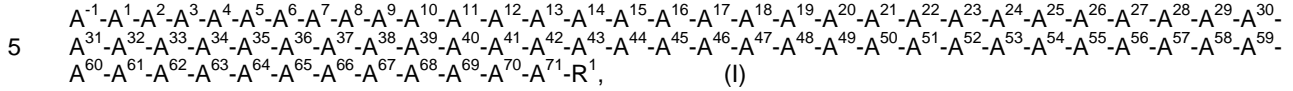
<400> 56

Xaa Phe Arg Ser Cys Asp Leu Arg Arg Leu Glu Xaa Tyr Cys Ala Pro
1 5 10 15
Leu Lys Pro Ala Lys Ser Ala
20

REIVINDICACIONES

1. Un análogo de IGF-1 de fórmula (I),

H-



en donde:

- A⁵⁹ es Asn;
- A¹ es Met, Ser o eliminado;
- 10 A¹ es Gly o eliminado;
- A² es Pro, Lys o eliminado;
- A³ es Glu o eliminado;
- A⁴ es Thr;
- A⁵ es Leu;
- 15 A⁶ es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
- A⁷ es Gly;
- A⁸ es Ala;
- A⁹ es Glu;
- A¹⁰ es Leu;
- 20 A¹¹ es Val;
- A¹² es Asp;
- A¹³ es Ala;
- A¹⁴ es Leu;
- A¹⁵ es Gln;
- 25 A¹⁶ es Phe;
- A¹⁷ es Val;
- A¹⁸ es Cys, hCys, β-Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
- A¹⁹ es Gly;
- A²⁰ es Asp;
- 30 A²¹ es Arg;
- A²² es Gly;
- A²³ es Phe;
- A²⁴ es Tyr;
- A²⁵ es Phe;
- 35 A²⁶ es Asn;
- A²⁷ es Lys, Arg o Pro;
- A²⁸ es Pro o Lys;

- A²⁹ es Thr;
 A³⁰ es Gly;
 A³¹ es Tyr;
 A³² es Gly;
 5 A³³ es Ser;
 A³⁴ es Ser;
 A³⁵ es Ser;
 A³⁶ es Arg;
 A³⁷ es Arg;
 10 A³⁸ es Ala;
 A³⁹ es Pro;
 A⁴⁰ es Gln;
 A⁴¹ es Thr;
 A⁴² es Gly;
 15 A⁴³ es Ile;
 A⁴⁴ es Val;
 A⁴⁵ es Asp;
 A⁴⁶ es Glu;
 A⁴⁷ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
 20 A⁴⁸ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
 A⁴⁹ es Phe, Arg, Leu o Thr;
 A⁵⁰ es Arg o Ser;
 A⁵¹ es Ser, Aib, Arg o Thr;
 A⁵² es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
 25 A⁵³ es Asp, Arg o Ser;
 A⁵⁴ es Leu o A6c;
 A⁵⁵ es Arg o Tyr;
 A⁵⁶ es Arg o Gln;
 A⁵⁷ es Leu;
 30 A⁵⁸ es Glu o Arg;
 A⁶⁰ es Tyr o Phe;
 A⁶¹ es Cys, hCys, β -Me-Cys, N-Me-Cys o Pen;
 A⁶² es Ala o Asn;
 A⁶³ es Pro, D-Pro, Thr o eliminado;
 35 A⁶⁴ es Leu, D-Leu, des-Leu o eliminado;
 A⁶⁵ es Lys, D-Lys, des-Lys, Arg o eliminado;
 A⁶⁶ es Pro, D-Pro o eliminado;

- A⁶⁷ es Ala, D-Ala, Aib o eliminado;
 A⁶⁸ es Lys, D-Lys, Arg o eliminado;
 A⁶⁹ es Ser, D-Ser, Aib, Thr o eliminado;
 A⁷⁰ es Ala, D-Ala, Glu o eliminado; y
 5 A⁷¹ es eliminado, Asp, Glu, Lys o Ser; y
 R¹ es OH o NH₂;

siempre que las cadenas laterales de las parejas de residuos A⁶ y A⁴⁸, A⁴⁷ y A⁵², y A¹⁸ y A⁶¹, formen cada una un enlace disulfuro; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un análogo de IGF-1 según la reivindicación 1, en donde dicho análogo es:

- | | |
|--|----------------|
| (Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:1) |
| (Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-62)-OH; | (SEQ ID NO:2) |
| (Asn ⁵⁹)hIGF-1(4-70)-OH; | (SEQ ID NO:3) |
| (Pro ²⁷ , Lys ²⁸ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:4) |
| (Pro ²⁷ , Lys ²⁸ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-62)-OH; | (SEQ ID NO:5) |
| (Ser ⁵³ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:6) |
| (Ser-Gly ¹ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:7) |
| (Asn ⁵⁹ , Thr ⁶³ , des-Leu ⁶⁴ , des-Lys ⁶⁵ , Glu ⁷⁰)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:8) |
| (Tyr ⁵⁵ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:9) |
| (Thr ⁴⁹ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:10) |
| (Asn ^{59,62})hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:11) |
| (Asn ⁵⁹ , Phe ⁶⁰)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:12) |
| (Ser ⁵⁰ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:13) |
| (Gln ⁵⁶ , Asn ⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | (SEQ ID NO:14) |
| (Asn ⁵⁹ , D-Pro ⁶³)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Leu ⁶⁴)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Lys ⁶⁵)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Pro ⁶⁶)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Ala ⁶⁷)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Lys ⁶⁸)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Ser ⁶⁹)hIGF-1(1-70)-OH; | |
| (Asn ⁵⁹ , D-Ala ⁷⁰)hIGF-1(1-70)-OH; | |

(Met-Gly¹, Asn⁵⁹)hIGF-1(1-70)-OH;

(SEQ ID NO:47)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un análogo según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.

5 **4.** Un análogo según la reivindicación 1 o 2 o una composición farmacéutica según la reivindicación 3, para uso en el tratamiento de afecciones o enfermedades mediadas por la unión al receptor de IGF-1, comprendiendo dicho tratamiento la etapa de administrar a un sujeto que lo requiere una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho análogo o composición farmacéutica.

10 **5.** Un análogo o una composición farmacéutica para uso según la reivindicación 4, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona a partir del grupo que consiste en estatura baja, obesidad, pérdida de peso, caquexia, anorexia, trastornos neurodegenerativos, afecciones ligadas a la fibrosis, trastornos del cartílago, enfermedades óseas, trastornos inflamatorios, trastornos intestinales, resistencia a la insulina, diabetes, cetoacidosis diabética, síndrome de Rabson-Mendenhall, retinopatía, acromegalia, hiperplasia fibromuscular y trastornos cardíacos.

15 **6.** Un análogo o una composición farmacéutica para uso según la reivindicación 5, en donde dicho sujeto que requiere un tratamiento de la estatura baja es un sujeto pediátrico humano que tiene una carencia de factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGFD), en donde dicha administración es eficaz para tratar la IGFD en el sujeto pediátrico humano.